

RODRIGO NOGUEIRA OLENDZKI

**CARACTERIZAÇÃO DAS INTERAÇÕES DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS COM
A MATÉRIA INORGÂNICA EM SOLOS DE CULTIVO DE ARROZ IRRIGADO:
CONTRIBUIÇÃO À AQUISIÇÃO DE DADOS ESSENCIAIS PARA AVALIAÇÃO
GLOBAL DO SEQÜESTRO DE CARBONO NO SOLO**

**Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Doutor em Química, Curso
de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências
Exatas, Universidade Federal do Paraná.**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich

CURITIBA

2006

Para a minha eterna prenda amada Gislaine.

À minha mãe Lais e aos meus manos velhos de guerra Álvaro e André e, suas respectivas famílias.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não ter me deixado desistir duas vezes na primeira semana...

Aos meus orientadores da Iniciação Científica, Prof. Dr. Ilzemar Schneider (UFSM) e, Mestrado, Prof. Dr. Manfredo Hörner (UFSM), pelo apoio no início de minha formação científica;

Ao Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich, pela oportunidade, orientação, o constante apoio, pela valiosa e efetiva colaboração na realização deste trabalho e pela sua amizade.

Aos Prof. Dr. Maria Marta de Souza Sierra do Departamento de Química da UFSC/Florianópolis, SC, Deborah Pinheiro Dick do Instituto de Química da UFRGS/Porto Alegre, RS, Sueli Drechsel e Gilberto Abate do Departamento de Química da UFPR/Curitiba, PR, pela valiosa colaboração e gentileza na composição da Banca Examinadora.

Aos Prof. Dr. Aldo Zarbin, Iara Messerschmidt, João Batista Novo, Lauro Camargo, Marco Grassi e Patrício Zamora, do Departamento de Química da UFPR, pela amizade e contribuição para a realização deste.

Aos Dr. Betânia Pereira, Fernando Sodré e Geraldo Friedermann pela efetiva participação neste trabalho.

Aos Funcionários do Departamento de Química da UFPR.

Aos Professores e Funcionários do Centro Federal de Educação Tecnológica de Pelotas (CEFET/RS).

À EMBRAPA/CPACT – Pelotas/RS, em especial aos pesquisadores Ms. Algenor Gomes e Luis Henrique Ferreira (Bagé), e Dr. Clênio Pillon, por toda a ajuda e suporte, principalmente na coleta das amostras de solo.

Ao TECPAR/Curitiba, PR, em especial ao Ms. Ronei da Paixão pelas análises de metais.

À Universidade Federal do Paraná – Departamento de Química, pela acolhida.

Aos amigos do Laboratório LabPAm (DQ/UFPR), Ademar, Andréia, Arai, Betânia, Claudia, Cristiane, Elisete, Fábio, Isis, Jeniffer, Júlio Caetano, Júlio Santos, Kátia, Lenise, Ronei, Sílvio e Tatiane, pela ajuda e amizade.

Aos colegas e amigos do Departamento de Química (UFPR).

À minha família e de minha esposa pelo apoio e estímulo.

“NÃO TÁ MORTO QUEM PELEIA”

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

TRABALHOS RESUMIDOS EM EVENTOS

- 1 - do Valle, T., dos Santos, J.V., Lombardi, K.C., Olendzki, R.N., Mangrich, A.S., Espectroscopia de Ácidos Húmicos Extraídos de Solos onde Crescem Fungos Melanogênicos. In: V ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 2003, Curitiba/PR.
- 2 - Lombardi, K.C., Olendzki, R.N., do Valle, T., dos Santos, J.V., Mangrich, A.S., Contribuição do Macrofungo *Boletiniellus rompelii* na Formação de Substâncias Húmicas do Solo. In: 27ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2004, Salvador/BA.
- 3 - Mangrich, A.S., Pereira, B.F., Budziak, C.R., Guimarães, E. e Olendzki, R.N., Interação Orgânica-Inorgânica em Ácidos Húmicos de Solos e Turfas. In: XII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2004, Guarapuava/PR.
- 4 - Mangrich, A.S., Pereira, B.F., Budziak, C.R., Guimarães, E. e Olendzki, R.N., Inorganic-Organic Interactions on Peats, and Soils Humic Acids. In: XII BRAZILIAN MEETING ON INORGANIC CHEMISTRY and II JOINT BRAZILIAN/ITALIAN INORGANIC CHEMISTRY MEETING, 2004, São Carlos/SP.
- 5 - Ignácio, A.C., Olendzki R.N. e Mangrich, A.S., Caracterização de Interações de Grupos Ligantes de Ácidos Húmicos com os íons Fe^{3+} e Cu^{2+} em Solos de Cultivo de Arroz Irrigado. In: 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2006, Águas de Lindóia/SP.

6 - Olendzki R.N., Ignácio, A.C., e Mangrich, A.S., Rice Field Soils Organic Matter Characterization Using Fluorescence EEM Technique. In: 13th Meeting of the International Humic Substances Society, 2006 - Karlsruhe, Germany

7 – Betania F. Pereira, Jeniffer V. dos Santos, Iara Messerschmidt, Rodrigo N. Olendzki, Clênio N. Pillon e Antonio S. Mangrich, Organic Functions Content Determination in Whole Soils, Humin and Humic Acid Using Chemometric Method Applied to DRIFT Spectroscopic Data. In: 13th Meeting of the International Humic Substances Society, 2006 - Karlsruhe, Germany

ARTIGO PUBLICADO COM O GRUPO

1 - MANGRICH, A.S.; GIANNONI, R.A.; LOMBARDI, K.C.; PEREIRA, B.F.; OLENDZKI, R.N.; GUIMARÃES, E.; BUDZIAK, C.K.; NOVOTNY, E.H.; DOS ANJOS, A.; SILVA, F.A.; DOS SANTOS, J.C.P.; DO VALLE, T.; VUGMAN, N.V. Clay minerals from two tropical soils and their interaction with the herbicide atrazine. **Metals Materials and Processes**, v.17, n. 3-4, p.243-248, 2005.

ARTIGOS SUBMETIDOS REFERENTES A ESTE TRABALHO

1 - OLENDZKI, R.N., PEREIRA, B.F., MESSERSCHMIDT, I., MANGRICH, A.S. Organic functions content determination in humic substances using PLS chemometric method applied to DRIFT spectroscopic data, **Geoderma**, 2006.

2 - OLENDZKI, R.N., IGNÁCIO, A.C., MANGRICH, A.S. Evaluation of agronomic management impacts on rice field soil organic matter by fluorescence excitation/emission matrix technique, **Chemosphere**, 2006.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iii
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	v
SUMÁRIO	vii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 – O EFEITO ESTUFA E O PROTOCOLO DE KYOTO	3
2.2 – A IMPORTÂNCIA DO SOLO NO SEQÜESTRO DE CARBONO	6
2.3 – A FORMAÇÃO DO SOLO	8
2.4 – SOLOS DE VÁRZEA	9
2.5 – AEROBIOSE x ANAEROBIOSE	9
2.5.1 – DEGRADAÇÃO AERÓBIA	10
2.5.2 – DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA	11
2.6 – DECOMPOSIÇÕES E SÍNTESES DA MATÉRIA ORGÂNICA NO SOLO: SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	12
2.7 – A TEORIA SUPRAMOLECULAR PARA SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	16
2.8 - HUMIFICAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS UTILIZADOS NA PLANTAÇÃO DE ARROZ	19
2.9 – EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO	19
2.10 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS	21
2.10.1 - ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS)	21
2.10.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)	24
2.10.3 - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)	26
2.10.3.1 - RELAXAÇÃO E SATURAÇÃO DE POTÊNCIA	29
2.10.4 - ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR	30
2.10.4.1 - MODALIDADE EMISSÃO	32
2.10.4.2 - MODALIDADE MATRIZ EXCITAÇÃO-EMISSÃO (MEE)	34
2.10.4.3 - MODALIDADE SINCRONIZADA	35
2.10.5 - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR)	37
2.11 - DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (XRD)	38
2.12 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR (C, H, N, O)	39
2.13 – ANÁLISE DE METAIS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ACOPLAMENTO INDUZIDO (ICP-AES)	40
2.14 – CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA	41
3 – OBJETIVOS	45
3.1 – GERAIS	45

3.2 – ESPECÍFICOS	45
4 – MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 – AMOSTRAGEM	46
4.2 – EXTRAÇÕES DAS SH DO SOLO	47
4.3 – SEPARAÇÃO DA FRAÇÃO ARGILA	49
4.4 – MUDANÇAS MACROMOLECULARES NAS SH INDUZIDAS PELA INTERAÇÃO COM ÁCIDO ACÉTICO	50
4.5 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS	51
4.5.1 - ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL POR REFLECTÂNCIA DIFUSA (DR UV- VIS)	51
4.5.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)	51
4.5.2.1 – MODALIDADE POR REFLECTÂNCIA DIFUSA COM TRANSFORMADA DE FOURIER (DRIFT)	51
4.5.2.2 – MODALIDADE POR TRANSMITÂNCIA	52
4.5.3 - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)	52
4.5.4 – ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR	52
4.5.4.1 – MODALIDADE EMISSÃO	53
4.5.4.2 – MODALIDADE SINCRONIZADA	53
4.5.4.3 – MODALIDADE MATRIZ EXCITAÇÃO-EMIÇÃO (MEE)	53
4.6 - DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (XRD)	54
4.7 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FUNÇÕES ORGÂNICAS EM AH E HU USANDO O MÉTODO QUIMIOMÉTRICO PLS APLICADO A DADOS ESPECTROSCÓPICOS DE DRIFT	54
4.8 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR (C,H,N,O) E TEOR DE CINZAS	55
4.9 – ANÁLISE DE METAIS (Al, Cu, Fe, Mn) POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ACOPLAMENTO INDUZIDO (ICP-AES)	55
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 – ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL POR REFLECTÂNCIA DIFUSA (DR UV-VIS)	56
5.2 – ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)	60
5.3 – ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)	67
5.3.1 – ENSAIO DE VARIAÇÃO DE POTÊNCIA	76
5.4 – ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR	79
5.5 – MUDANÇAS MACROMOLECULARES NAS SH INDUZIDAS PELA INTERAÇÃO COM ÁCIDO ACÉTICO	86
5.6 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FUNÇÕES ORGÂNICAS EM AH E HU USANDO O MÉTODO QUIMIOMÉTRICO PLS APLICADO A DADOS ESPECTROSCÓPICOS DE DRIFT	95
5.7 – DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (XRD)	98
Continuação da Tabela 10	103
5.8 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR (C,H,N,O)	103
5.9 – ANÁLISE DE METAIS (Al, Cu, Fe, Mn) POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ACOPLAMENTO INDUZIDO (ICP-AES)	106
6 – CONCLUSÕES	107
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

SH : Sustâncias Húmicas

MO : Matéria Orgânica

MOS : Matéria Orgânica do Solo

CpOx : Capacidade de se deixar oxidar

MIS : Matéria Inorgânica do Solo

AH : Ácido Húmico

AF : Ácido Fúlvico

HU : Humina

HAc : Ácido Acético

IHSS : International Humic Substances Society (Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas)

DR UV-VIS : Espectroscopia no Ultravioleta-Visível por Reflectância Difusa

E_4/E_6 : Razão entre as absorbâncias ou 1/log da reflectância em 465 nm e 665 nm

E_2/E_4 : Razão entre as absorbâncias ou 1/log da reflectância em 270 nm e 407 nm

FTIR : Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

DRIFT : Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Difusa com Transformada de Fourier

EPR : Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica

RLO : Radical Livre Orgânico

g : Fator g

ge : Fator g do elétron livre

MEE : Matriz Excitação-Emissão

NMR : Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

^{13}C CPMAS NMR : Espectros de NMR de ^{13}C com Polarização Cruzada e Rotação em Torno do Ângulo Mágico

XRD : Difração de Raios-X

Å : ângstrom

PLS : Partial Least Squares (Método dos Mínimos Quadrados Parciais)

VL : Variável Latente

PD : Plantio Direto

PC : Plantio Convencional

T : Campo Nativo

CPACT : Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado

Embrapa : Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

IPC : Estágio Inundado sob Plantio Convencional

IPD : Estágio Inundado sob Plantio Direto

IT : Estágio Inundado sob Campo Nativo

DPC : Estágio Drenado sob Plantio Convencional

DPD : Estágio Drenado sob Plantio Direto

DT : Estágio Drenado sob Campo Nativo

LABPAM : Laboratório de Projetos e Processos Ambientais

DQ : Departamento de Química

conc : Concentrado

m/m : Massa por massa

λ_{em} : Comprimento de onda de Emissão

λ_{exc} : Comprimento de onda de Excitação

LT : Luminescência Total

λ : Comprimento de onda

v : Estiramento

2 v : Primeiro Sobreton

3 v : Segundo Sobreton

δ : Deformação

G : Gauss

A : Constante Hiperfina

S : Número de Spin Total

g_{\perp} : Fator g perpendicular

$A_{\perp N}$: Constante Super-hiperfina Perpendicular

SP : Padrão Strong Pitch

$P^{1/2}$: Potência a Meia Saturação

T_1 : Tempo de Relaxação Spin-Rede

T_2 : Tempo de Relaxação Spin-Spin

IF_{EM} : Intensidade de Fluorescência Obtida de Espectros de Emissão

u.a. : Unidades Arbitrárias

PME : Pico Máximo de Emissão

PCEE : Pares de Comprimento de Onda Excitação-Emissão

IF_{LT} : Intensidade de Fluorescência Obtida por Luminescência Total

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de retenção de calor na Terra através do efeito estufa	4
Figura 2 – Diagrama do ciclo global do carbono..	6
Figura 3 – Esquema da via de degradação aeróbia da matéria orgânica.	10
Figura 4 – Esquema da via de degradação anaeróbia da matéria orgânica.	11
Figura 5 - Mecanismos de formação de substâncias húmicas do solo	14
Figura 6 - Estruturas de complexos possivelmente formados durante o processo de extração das SH, entre os íons Al^{3+} e Fe^{3+} e ligantes fosfato e, suas respectivas constantes de estabilidades (log K) a 25 °C	20
Figura 7 – Comparação do comprimento de onda de absorbância máxima ($\lambda_{máx}$), de cor, e de emissão de três moléculas com 1, 3, e 5 anéis benzênicos respectivamente	22
Figura 8 - Representação de moléculas aromáticas policondensadas A) em solução e B) no estado sólido.	24
Figura 9 - Algumas vibrações de um grupo metileno.	25
Figura 10 - Efeito da aplicação de um campo magnético sobre os níveis de energia de um elétron ($S=1/2$) e o sinal de absorção em primeira derivada observada no EPR.	28
Figura 11 - Diferentes espectros de EPR de materiais condensados com relações aos respectivos g	28
Figura 12 - Curva de saturação de potência do sinal de EPR, mostrando as formas de saturação homogênea e não homogênea.....	30
Figura 13 - Espectro de emissão de fluorescência para uma solução de ácido húmico comercial. $\lambda_{exc} = 315$ nm.	33
Figura 14 - Espectro de excitação-emissão obtido para uma solução de ácido húmico comercial.	34
Figura 15 - Espectro de fluorescência sincronizada para uma solução de ácido húmico comercial, $\Delta\lambda = 18$ nm	36
Figura 16 - Campo experimental de plantio de arroz da Embrapa (CPACT)/Pelotas-RS	46
Figura 17 - Espectros UV-VIS, no estado sólido, dos AH obtidos por reflectância difusa.	56
Figura 18 - Espectros UV-VIS, no estado sólido, das HU obtidos por reflectância difusa.....	57

Figura 19 - Espectros no infravermelho médio e próximo obtidos por reflectância difusa dos AH. As linhas tracejadas representam as principais bandas atribuídas no IV próximo.....	60
Figura 20 - Espectros no infravermelho médio e próximo obtidos por reflectância difusa das HU. As linhas tracejadas representam as principais bandas atribuídas em toda a faixa varrida...	61
Figura 21 - Espectros de FTIR na modalidade transmitância dos AH na faixa de 4000-400 cm ⁻¹ . As linhas tracejadas assinalam as principais bandas atribuídas.	65
Figura 22 - Razão da soma das alturas dos picos para carbonos aromáticos e alifáticos observados nos espectros de DRIFT dos AH.	66
Figura 23 - Razão da soma das alturas dos picos para carbonos aromáticos e alifáticos observados nos espectros de DRIFT das HU.	66
Figura 24 - Espectros de EPR das huminas em 5000 G a 77 K.	68
Figura 25 - Estrutura adaptada da proposta por da Silva (2001) para a interação orgânica-inorgânica no solo.....	69
Figura 26 – Espectros de EPR das HU registrados em 800 G a 77 K.....	69
Figura 27 - Representação de um complexo de esfera externa.	70
Figura 28 - Espectros de EPR dos AH referentes às amostras do período drenado em 5000 G a 77 K.	70
Figura 29 - Espectros de EPR dos AH referentes às amostras do período inundado em 5000 G a 77 K.	71
Figura 30 - Espectros de EPR dos AH analisados em 2000 G a 77 K.	72
Figura 31 – Parte central, em detalhe, dos espectros de EPR dos AH analisados a 77 K.....	73
Figura 32 - Estrutura de uma porfirina metálica	73
Figura 33 - Espectros de EPR dos AH analisados na região de radicais livres orgânicos ($g \sim 2,0$) a temperatura ambiente (~ 300 K).....	74
Figura 34 - Ensaio de variação de potência para os AH analisados	77
Figura 35 - Saturação de potência das amostras de AH.	78
Figura 36 - Espectros de fluorescência na modalidade emissão (λ excitação = 360 nm) dos AH. Concentração 100 mg L ⁻¹ e pH = 9,2.	80
Figura 37 - Espectros de fluorescência na modalidade emissão (λ excitação = 360 nm) dos AF, obtidos diretamente da solução de extração (pH $\sim 2,0$).	80

Figura 38 - Espectros de fluorescência na modalidade sincronizada (λ emissão = 300-700 nm e $\Delta\lambda = 18$ nm) dos AH em solução (concentração = 100 mg L ⁻¹ e pH = 9,2).....	81
Figura 39 - Espectros de fluorescência na modalidade sincronizada (λ emissão = 300-700 nm e $\Delta\lambda = 18$ nm) dos AF, obtidos diretamente da solução de extração (pH = 2,0).	82
Figura 40 - Espectros de luminescência total no modo matriz excitação-emissão (ou mapas de contorno) dos AH.	83
Figura 41 - Espectros de luminescência total no modo matriz excitação-emissão (ou mapas de contorno) dos AF.....	84
Figura 42 - Espectros de fluorescência modalidade emissão para as soluções estoque de AH e tratados com ácidos (a), soluções estoque (b), tratados com HCl (c) e tratados com HAc (d). Os espectros (a) apresentaram um pico de emissão máxima (PEM), um ombro (O) e o pico do espalhamento Raman (R). Os espectros (b), (c) e (d) mostram os picos anteriores deconvoluídos, em azul.	92
Figura 43 - Espectros de fluorescência modalidade sincronizada ($\Delta\lambda = 18$ nm) das soluções estoque dos AH e tratadas com HCl e HAc. Todas apresentam um pico principal (PP) e um secundário (PS).....	93
Figura 44 - Correlação entre as razões E_4/E_6 e conteúdos de carbono aromático total (calculado através do modelo PLS) para HU e AH. R representa o coeficiente de correlação.	98
Figura 45 – Difractogramas de raios-X dos ácidos húmicos.....	99
Figura 46 - Difractogramas de raios-X das huminas.....	100
Figura 47 - Difractogramas de raios-X das frações argila dos solos estudados.....	102
Figura 48 – Correlação entre a porcentagem de oxigênio, obtida através da análise elementar e porcentagem de carbonos ligados a oxigênio, obtida através do modelo PLS.....	105
Figura 49 – Correlação entre a razão O/C, obtida através da análise elementar e porcentagem de carbonos ligados a oxigênio, obtida através do modelo PLS	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo médio de residência da MO (anos) - modelo de Jenkinson	7
Tabela 2 - Razões E_4/E_6 e E_2/E_4 , para as amostras de AH e HU.	58
Tabela 3 - Atribuições das principais bandas de infravermelho encontradas em AH e HU.	63
Tabela 4 - Número de spin.g ⁻¹ e valor de g para radicais livres do tipo semiquinona dos AH	75
Tabela 5 - Valores de potência a meia saturação ($P^{1/2}$) e largura de linha de radicais livres dos AH analisados.	79
Tabela 6 - Comprimentos de onda (nm) do pico máximo de emissão (PME) e respectivas intensidades de fluorescência (IF_{EM}), obtidos dos espectros de emissão dos AH e AF.	81
Tabela 7 - Pares de comprimentos de onda excitação-emissão (PCEE, nm/nm) dos máximos dos picos principais nos espectros de luminescência total e as correspondentes intensidades de fluorescência (IF_{LT}) dos AH e AF estudados.	85
Tabela 8 – Proporções relativas de diferentes grupos de carbono calculadas pelo modelo PLS para HU e AH. Na última coluna aparece a porcentagem de C aromático total (soma das porcentagens de C aromático ligado a O ou N e C aromático ligado a H ou C).	96
Tabela 9 - Quantidade, em porcentagem, dos principais óxidos e, em mmol/100 g dos principais cátions presentes na camada arável (0-20 cm) de um Planossolo Hidromórfico do sul do estado do Rio Grande do Sul.	101
Tabela 10 - Fórmulas químicas dos principais componentes presentes na fração argila dos solos estudados.	102
Tabela 11 - Composições elementares, razões atômicas e conteúdo de cinzas dos AH.	103
Tabela 12 - Teores de metais (Al, Cu, Fe e Mn) de AH e HU determinados por ICP-AES.	107

RESUMO

Os solos utilizados com fins agrícolas têm o potencial de fornecer contribuição significativa para a redução das emissões de gases do efeito estufa através do aumento do sequestro de carbono na matéria orgânica do solo. O Rio Grande do Sul é um dos principais produtores de arroz irrigado do país, constituindo-se em grande área de interesse para estudos relacionados a este tema. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as estruturas de substâncias húmicas e suas interações com a matéria inorgânica de um solo utilizado sob plantação de arroz irrigado por métodos químicos, espectroscópicos e quimiométricos.

Seis amostras de um Planossolo foram coletadas em profundidade de 0-20 cm no Campo Experimental do Arroz da EMBRAPA/CPACT, Pelotas/RS – Brasil, sob dois diferentes manejos: plantio direto (PD) e plantio convencional (PC), e sob campo nativo (T). Três amostras foram coletadas do solo sob condições inundadas (I) e posteriormente, outras três sob condições drenadas (D). Substâncias húmicas destas amostras foram extraídas e analisadas por DR UV-VIS, DRIFT, EPR, Fluorescência UV-VIS, XRD, Análise Elementar, ICP-AES e PLS (Calibração Multivariada).

Os íons Cu^{2+} e Fe^{3+} desempenham um papel importante na interconexão de moléculas orgânicas nos ácidos húmicos (AH), estando parte destes formando estruturas do tipo metal-porfirina. Os espectros de EPR mostraram que os íons Fe^{3+} estão ligados à matéria orgânica do solo através de grupos oxigenados, enquanto que os íons Mn^{2+} formam complexos de esfera externa com ela na fração humina (HU).

A matéria orgânica deste solo é predominantemente de origem aquática, sendo que apresenta baixos valores das razões E_2/E_4 . O período inundado parece favorecer um maior grau de humificação da matéria orgânica do solo em comparação com o período drenado. Isto se deve porque as amostras de HU e AH do primeiro apresentaram menores valores de razões E_4/E_6 e maiores quantidades de carbono aromático total (calculado através do modelo PLS) quando comparadas com as do último. Este fato pode estar associado a uma reação de oxidação de anéis benzênicos nas amostras do período drenado. Além disso, os AH do período inundado contêm maior número de spins g^{-1} , maior potência de saturação de radicais livres, posição dos pares de comprimento de onda excitação-emissão levemente deslocados para valores maiores e menores intensidades de fluorescência no pico de emissão máxima.

No geral, conclui-se que o plantio direto, associado à cultura do arroz irrigado neste tipo de solo, pode favorecer a permanência do carbono por mais tempo no solo (C sequestrado), sendo assim um manejo mais conservacionista.

ABSTRACT

Agricultural soils have the potential to make a significant contribution towards reducing emissions of green house gases to the atmosphere through increased carbon sequestration in soil organic matter. Rio Grande do Sul is one of the main producers of irrigated rice in the country, consisting in a great interest area for studies related with this subject. The objective of this work was to characterize the structure of humic substances and their interactions with the inorganic matter from an irrigated rice cropping soil by chemical, spectroscopic and chemometric methods.

Six Planosol samples were taken at 0 – 20 cm depth from EMBRAPA/CPACT Experimental Rice Field, Pelotas/RS – Brazil, under two different agronomic managements, low tillage (PD) and conventional tillage (PC), and under grassland (T). Three samples were collected from soil under flooded conditions (I), and later, other three were collected from drained conditions (D). Humic substances of these samples had been extracted and analyzed by DR UV-VIS, DRIFT, EPR, Fluorescence UV-VIS, XRD, Elemental Analysis, ICP-AES and PLS (Chemometric Method).

Cu^{2+} and Fe^{3+} ions play an important role in the humic acid (AH) organic molecules interconnection, being part of these ions forming structures like metal-porphyrin. The EPR spectra showed that Fe^{3+} ions are linked to the soil organic matter through oxygenated groups, while Mn^{2+} ions form outer sphere complexes in the humin fraction (HU).

The organic matter of this soil is predominantly from aquatic origin since it presents low E_2/E_4 ratio values. The flooded period seems to favor a higher humification degree of the soil organic matter in comparison with the drained period. This is due to the former HU and AH samples presented low E_4/E_6 ratio values and higher total aromatic carbon amounts (calculated by PLS model) when compared with the latter. This fact can be associated to a benzenic rings oxidation reaction in the drained period samples. Moreover, flooded period humic acids contain a greater spins g^{-1} number, higher free radicals saturation power, excitation-emission wavelength pairs position slightly shifted to higher values and lower fluorescence intensities in the peak of maximum emission.

Generally, it is concluded that the low tillage associated to the irrigated rice crop in this type of soil, can favor the soil carbon remaining for a longer time period (sequestered carbon), being thus a more preservative agronomic management.

1 – INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial vem causando considerável impacto ambiental, tendo como consequência a redução da qualidade de vida (Chang, 1999). O necessário, mas as vezes inadequado crescimento das atividades agrícolas e industriais tem como efeito o aumento dos níveis de poluição ambiental, causado pelo acúmulo de rejeitos sólidos, líquidos e gasosos, além da desregrada queima de florestas e combustíveis fósseis. Um destes problemas é o efeito sobre o aquecimento global, conhecido por efeito estufa, que faz crescer gradativamente a temperatura no planeta, e é causado pelo aumento da emissão de gases, principalmente o CO₂.

Um aspecto importante a ser considerado é a capacidade dos solos em seqüestrar carbono, fornecendo uma ‘contramedida’ para mitigar os impactos ambientais causados pelo aumento de CO₂ atmosférico decorrente das queimas de combustíveis fósseis e desmatamentos.

Como nas demais áreas da ciência, o hemisfério geográfico sul se ressentir de dados em quantidade e qualidade. Isto prejudica os balanços globais, pois em termos do Planeta, significa dados incertos em 50 % da área total. No entanto, já são encontrados na literatura alguns trabalhos com o objetivo de minimizar este problema (Pauletti *et al.*, 2005; Bayer e Bertol, 1999; Bayer e Mielniczuk, 1997).

No ciclo do carbono terrestre, os solos contêm a maior fração de carbono, em relação à vegetação e à atmosfera. Conseqüentemente, os solos são considerados o maior reservatório e o principal sumidouro de carbono. Este é considerado seqüestrado pelo relativo longo período de tempo que possa residir nos solos e assim ficar impedido de voltar para a atmosfera (Swift, 2001).

O potencial para seqüestrar carbono de qualquer solo depende da sua capacidade em estocar componentes resistentes de plantas em médio prazo e em proteger e acumular substâncias húmicas (SH) formadas pelas transformações de materiais orgânicos de animais e plantas, principalmente, no ambiente dos solos. A formação das SH depende de

características intrínsecas de cada solo, como a vegetação que suporta, sua composição mineralógica, profundidade, drenagem, disponibilidade de água e ar, temperatura e tipo de manejo empregado. O potencial para seqüestrar carbono também depende das características químicas da matéria orgânica dos solos e sua resistência à decomposição microbiana.

Os fatores que favorecem a resistência da matéria orgânica (MO) à degradação podem ser químicos, como a formação de estruturas do tipo hidrocarbonetos de cadeias longas, a sua interação com colóides e/ou a formação de agregados com a fração inorgânica dos solos (Swift, 2001; Piccolo, 1996; Hayes e Clapp, 2001, Denef *et al.*, 2001).

Assim, estudos vêm sendo realizados no sentido de caracterizar a MO mais recalcitrante e de identificar os sistemas de cultura e de cultivo (manejo) que conduzam ao aumento da fixação desta nos solos (Rosell *et al.*, 1989; Olk *et al.*, 2000; Laird *et al.*, 2001; Milori *et al.*, 2002; Ding *et al.*, 2002).

A região sul do Rio Grande do Sul é uma das principais produtoras de arroz irrigado do Brasil, constituindo-se em uma grande área de interesse para estudos relacionados com este tema. Além dos diferentes tipos de manejos empregados estes solos são submetidos, durante o plantio, a regimes de alagamento, quando suas condições são anaeróbias, e de drenagem, quando as condições são aeróbias. No regime aeróbio a matéria orgânica do solo (MOS) é submetida a ataques dos microrganismos com maiores eliminações de CO₂. Nestas condições, as SH apresentariam baixas capacidades de sofrer oxidação (CpOx), principalmente se estiverem “guardadas” dentro de estruturas inorgânicas, e/ou se possuírem altos níveis de estruturas hidrófobas – longas cadeias aromáticas e/ou alifáticas. Os metais de transição mais importantes do ponto de vista do solo, como V, Mn, Fe, Cu e Mo, estão, nestas condições em formas mais oxidadas como V⁵⁺, Mn⁴⁺, Fe³⁺, Cu²⁺ e Mo⁵⁺. No período de inundação, regime anaeróbio, a MOS estaria mais preservada da decomposição microbiana, as SH apresentariam maiores CpOx e os metais estariam em formas mais reduzidas, VO²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Cu⁺ e Mo⁴⁺.

2 – REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – O EFEITO ESTUFA E O PROTOCOLO DE KYOTO

Efeito estufa é o nome dado à retenção de calor na Terra causada pela concentração de gases de diversos tipos. A intensificação desse fenômeno ocorre com a emissão de alguns poluentes e é responsável pelo aumento da temperatura média do planeta, o que pode causar sérios problemas ambientais. Os gases estufa (que impedem a dispersão dos raios solares) de maior concentração na Terra são o dióxido de carbono (CO_2), o metano (CH_4), o óxido nitroso (N_2O) e compostos de clorofluorcarbono (CFC). A maioria deles é proveniente da queima de combustíveis fósseis (carvão, petróleo e derivados), florestas e pastagens.

O mecanismo de retenção de calor na Terra é semelhante ao de uma estufa de plantas com teto de vidro, permitindo que a energia luminosa penetre na atmosfera e impedindo que a radiação proveniente da superfície aquecida do planeta se dissipe (Figura 1).

A maioria dos gases causadores do efeito estufa também é gerada naturalmente na atmosfera terrestre e sem eles não haveria vida no planeta. O ritmo acelerado de industrialização e poluição, porém, aumentou a quantidade desses gases e afetou o equilíbrio ecológico. O simples crescimento demográfico, junto com o aumento do número de animais criados para alimentação e a decomposição dos dejetos orgânicos produzidos são outra causa do problema. O desmatamento de florestas também é um fator agravante, uma vez que as árvores absorvem dióxido de carbono.

É difícil prever a escala e os efeitos do aquecimento global provocados pelo efeito estufa, e há debates e estudos científicos ainda em andamento. Segundo estimativas do Painel Internacional sobre Mudanças Climáticas, a temperatura média global subiu $0,6^\circ\text{C}$ no século 20, e pode elevar-se em mais 1°C até 2030. Até 2090, a projeção indica aumento de até 4°C , caso medidas de prevenção não sejam tomadas. Uma das

consequências mais graves do efeito estufa é o derretimento das camadas de gelo polares, o que já vem sendo detectado. Caso esse problema se agrave, o nível do oceano pode subir cerca de um metro, inundando regiões densamente povoadas próximas aos deltas dos rios e fazendo desaparecer ilhas e terrenos costeiros de baixa altitude. Outro problema seria o superaquecimento da região equatorial e a alteração das zonas climáticas em seus limites de latitude, o que provocaria desertificação e afetaria áreas produtoras de alimentos.



Figura 1 - Mecanismo de retenção de calor na Terra através do efeito estufa. Fonte : Efeito Estufa (2006)

Já há indícios que algumas das alterações climáticas previstas por cientistas, como grandes inundações e secas, estejam começando a ocorrer. Pesquisas recentes sugerem que as temperaturas médias não se alteram necessariamente de forma gradual e contínua,

podendo ocorrer "saltos" repentinos após períodos de estabilidade. Várias saídas vêm sendo propostas por cientistas e organizações ambientais. Alguns são favoráveis à limitação do crescimento da indústria, do consumo e da população. Outros defendem medidas técnicas de combate às causas do efeito estufa ou de combate aos efeitos do aquecimento global, como por exemplo dispositivos para impedir que os gases poluentes emitidos industrialmente entrem na atmosfera: plantio maciço de árvores; sistemas de escoamento de águas, manejo adequado de solos, etc.

A principal iniciativa internacional para tentar minimizar o problema é o Protocolo de Kyoto, um tratado assinado em 1997 que estabelece metas de redução na emissão dos gases estufa.

O Protocolo de Kyoto é um acordo internacional para reduzir as emissões de gases-estufa dos países industrializados e para garantir um modelo de desenvolvimento limpo aos países em desenvolvimento. O documento prevê que, entre 2008 e 2012, os países desenvolvidos reduzam suas emissões em 5,2 % em relação aos níveis medidos em 1990. O tratado foi estabelecido em 1997 em Kyoto, Japão, e assinado por 84 países. Destes, cerca de 30 já o transformaram em lei. O pacto entrará em vigor depois que isso acontecer em pelo menos 55 países. O acordo impõe níveis diferenciados de reduções para 38 dos países considerados os principais emissores de dióxido de carbono e de outros cinco gases-estufa.

Para os países da União Européia, foi estabelecida a redução de 8 % com relação às emissões de gases em 1990. Para os Estados Unidos, a diminuição prevista foi de 7 % e, para o Japão, de 6 %. Para a China e os países em desenvolvimento, como o Brasil, Índia e México, ainda não foram estabelecidos níveis de redução. Além da redução das emissões de gases, o Protocolo de Kyoto estabelece outras medidas, como o estímulo à substituição do uso dos derivados de petróleo pelo da energia elétrica e do gás natural. Os Estados Unidos, o país que mais emite gases estufa, retirou-se do acordo em março de 2001 (Protocolo, 2006).

2.2 – A IMPORTÂNCIA DO SOLO NO SEQÜESTRO DE CARBONO

O ciclo do carbono terrestre é apresentado na Figura 2. Observa-se que a atmosfera, os solos e plantas, os combustíveis fósseis e os oceanos contêm reservas de C bem menores que as rochas calcárias e os querogênios, que são reservas mais estáveis.

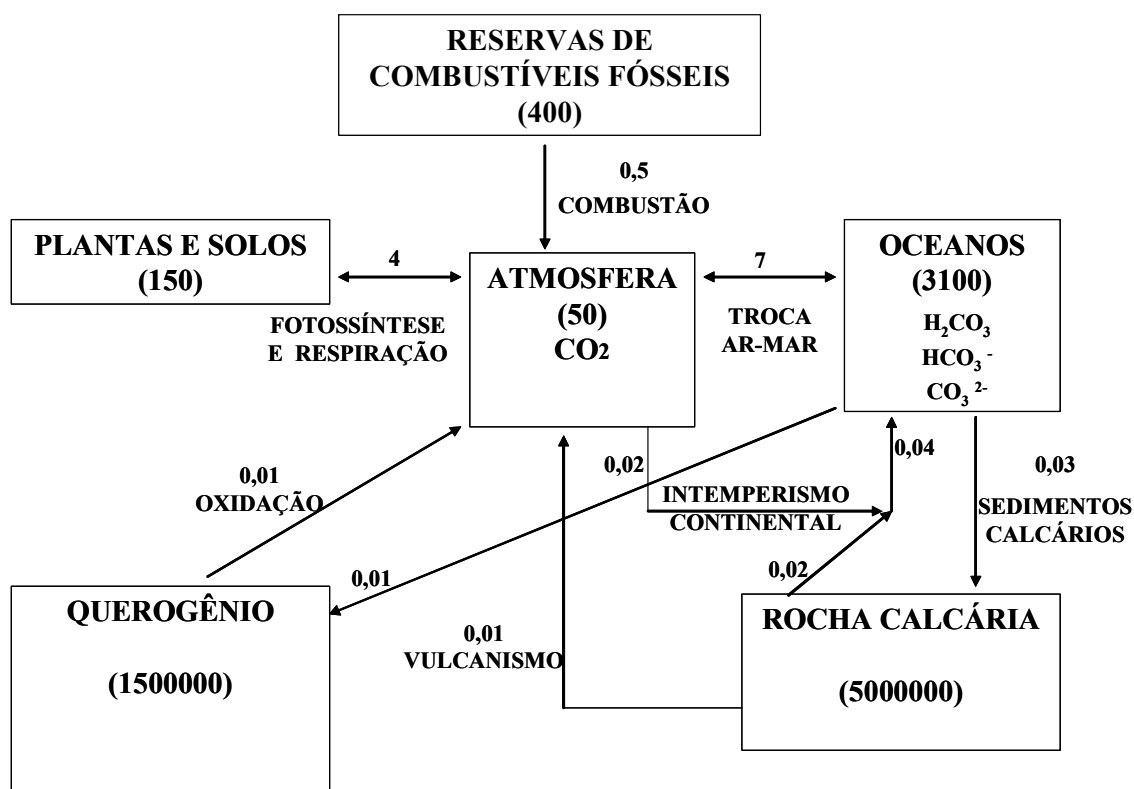


Figura 2 – Diagrama do ciclo global do carbono. As quantidades nos reservatórios estão em unidades de 10^{15} mol C e os fluxos em 10^{15} mol C ano⁻¹. Fonte: Macalady D. L., Perspectives in Environmental Chemistry, 1998.

A queima de combustíveis fósseis, como resultado da ação antrópica no planeta para a obtenção de energia, é o principal fator de acúmulo de CO₂ na atmosfera. O desequilíbrio entre estes reservatórios é preocupante considerando-se que o acúmulo de

carbono no reservatório de combustíveis fósseis acontece como resultado de processos de maturação durante cerca de 250 milhões de anos (Macalady, 1998). Existe equilíbrio entre as concentrações de C na atmosfera e as existentes nos oceanos. Assim, quantidades crescentes são seqüestradas pelos oceanos, razão pela qual o aumento de CO₂ atmosférico não é linear com relação às emissões causadas pelas atividades antropogênicas. Sabe-se que não havendo aportes antropogênicos, estes processos encontrariam-se em estado estacionário. Contudo, estas atividades alimentam o sistema, perturbam o equilíbrio, resultando em maiores níveis de CO₂ na atmosfera (Swift, 2001).

O modelo de Jenkinson representado na Tabela 1 apresenta a contribuição da proteção física e estabilização química da MO nos solos para o armazenamento do carbono.

Tabela 1 - Tempo médio de residência da MO (anos) - modelo de Jenkinson (Piccolo, 1996)

Material de Planta Prontamente Degradável	0,2
Material de Planta Resistente	3,3
Biomassa Microbiana	2,4
Matéria Orgânica Protegida Fisicamente	71
Matéria Orgânica Estabilizada Quimicamente	2900

Kennedy e colab.(2002) mostraram que 85% da variação do carbono orgânico total pode ser relacionada com a área da superfície mineral de sedimentos marinhos, indicando o importante papel da adsorção de compostos de carbono nas superfícies de minerais de argila na preservação do carbono orgânico nos solos.

No solo, um sistema dinâmico em formação, prevê-se a interação da matéria orgânica com a parte mineral, física e quimicamente, podendo esta ser mediada também biologicamente. Quimicamente, esta interação ocorreria através de forças de van der

Waals, ligações de hidrogênio, ligações mediadas por cátions e/ou oxi-hidróxidos (Stevenson, 1994).

2.3 – A FORMAÇÃO DO SOLO

A superfície da Terra é alterada constantemente através de processos naturais e antropogênicos. O solo surgiu como resultado destes processos de alterações naturais, chamados de intemperismo. Este se processa por alterações físicas, químicas e biológicas, formando um complexo de minerais com a participação da matéria orgânica do solo (MOS). O horizonte superficial (0-20 cm de profundidade) é o mais rico em MO, formada pela decomposição de plantas, principalmente, e de animais. Além do seqüestro de carbono, a MOS tem papel importante na qualidade dos solos; melhorando sua fertilidade, ciclagem de nutrientes, retenção e fornecimento de nutrientes às plantas e na criação e na manutenção da estrutura do solo (Allison, 1973). Por estas razões, se justifica a curiosidade científica com relação à compreensão da natureza da MOS. Hayes e Swift (1978) consideraram que a fração orgânica do solo é composta de organismos vivos e de seus resíduos remanescentes decompostos parcialmente e/ou completamente transformados. Os microrganismos do solo decompõem a MOS transformando-a em material amorfo marrom escuro, ou totalmente escuro, que é dividido em material húmico, ou húmus, e material não húmico. Assim, o húmus é definido como o material orgânico que foi transformado em formas relativamente estáveis, por microrganismos do solo (Bohn *et al.*, 1985). Há quem designe o húmus como a própria MOS (Stevenson, 1994; Mangrich e Vugman, 1988). Por outro lado, a matéria inorgânica do solo (MIS) pode ser dividida em minerais primários, com tamanhos mínimos de partículas de até ~ 20 µm (quartzo, feldspatos, micas, pedras, areias, silte), e secundários, com tamanhos de partículas menores que ~ 20 µm (argilas lamelares, óxidos metálicos) (Lombardi *et al.*, 2002).

2.4 – SOLOS DE VÁRZEA

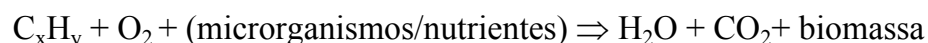
As várzeas são caracterizadas como áreas excessivamente úmidas, com processos químicos de redução e altas variabilidades de solo, seja sob vegetação de mata ou de campo hidrofilico (Fagéria *et al.*, 1994). O Brasil possui aproximadamente 30 milhões de hectares de várzeas distribuídos em todo o território nacional.

Genericamente, solos de várzea são aqueles encontrados nas planícies dos rios e lagos onde se desenvolvem sobre sedimentos. Como esses sedimentos apresentam grande heterogeneidade quanto à composição mineralógica e granulométrica, os solos neles desenvolvidos apresentam grande variação de características de um local para outro, que se refletem na aptidão de uso dos mesmos. A característica dominante nesses solos é a má drenagem ou hidromorfismo. A umidade excessiva dos solos de várzea geralmente está associada a um lençol freático próximo à superfície devido ao relevo e/ou presença de camadas impermeáveis no subsolo. Quando o solo é hidromórfico, a troca de gases entre o solo e o ar é drasticamente diminuída.

Os solos passíveis de serem utilizados para a cultura do arroz no estado do Rio Grande do Sul ocupam uma área aproximada de 4 milhões de hectares, distribuídos principalmente nas regiões da Planície Costeira, Depressão Central, Encosta Inferior do Nordeste, Campanha e Fronteira Oeste (Machado, 1993).

2.5 – AEROBIOSE x ANAEROBIOSE

O processo de biodegradação aeróbio da matéria orgânica pode ser representado por:



Enquanto que o bioprocesso anaeróbio ocorre da seguinte maneira:



2.5.1 – DEGRADAÇÃO AERÓBIA

Durante o processo de oxidação, a MOS é decomposta em CO_2 , água, nitratos, sulfatos e biomassa (microrganismos). No sistema aeróbio convencional, o substrato é utilizado como uma fonte de carbono e energia (Figura 3). Ele serve como doador de elétrons, resultando no crescimento bacteriano. A extensão da degradação é correlacionada com a taxa do consumo de oxigênio, bem como a aclimação prévia do organismo no mesmo substrato. As duas enzimas, primariamente envolvidas no processo, são as di e mono oxigenases. A última enzima pode agir tanto em compostos aromáticos como em alifáticos, enquanto que a primeira pode agir somente em compostos aromáticos. Uma outra classe de enzimas, envolvidas na degradação aeróbia, são as peroxidases, que têm recebido atenção recentemente por sua habilidade em degradar lignina (Doble e Kumar, 2005).

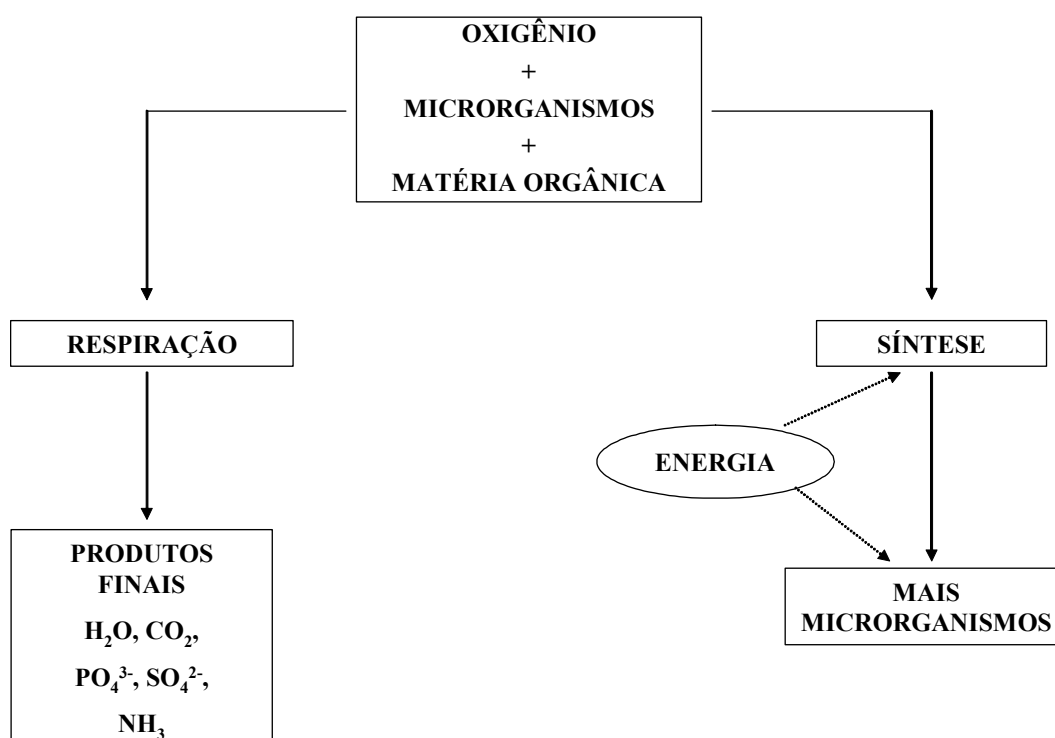


Figura 3 – Esquema da via de degradação aeróbia da matéria orgânica.

2.5.2 – DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA

A degradação anaeróbia é um processo biológico no qual a matéria orgânica é convertida por várias reações independentes, consecutivas e paralelas. Na ausência de oxigênio, comunidades de bactérias próximas cooperam para formar uma fermentação auto regulada estável que transforma a matéria orgânica em uma mistura de metano e CO_2 (Figura 4) (Doble e Kumar, 2005).

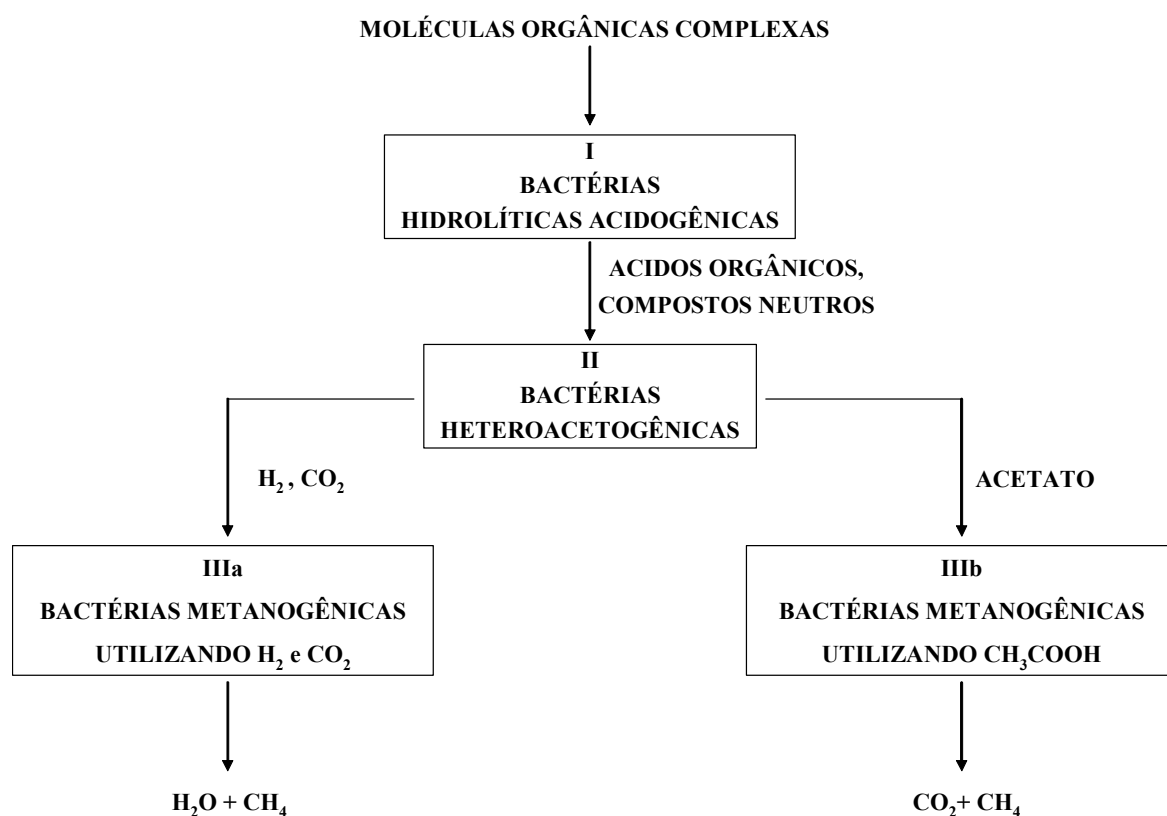


Figura 4 – Esquema da via de degradação anaeróbia da matéria orgânica.

Este processo ocorre em seis estágios principais (Jeyaseelan, 1997):

- a) Hidrólise de biopolímeros orgânicos complexos (proteínas, carboidratos e lipídios) em monômeros (aminoácidos, açúcares e ácidos graxos de cadeia longa) por bactérias hidrolíticas (grupo I) (acidogênicas);
- b) Fermentação de aminoácidos e açúcares por bactérias hidrolíticas (grupo I);
- c) Oxidação anaeróbia de ácidos graxos voláteis e álcoois pelas bactérias heteroacetogênicas (grupo II);
- d) Oxidação anaeróbia de produtos intermediários tais como ácidos graxos voláteis pelas bactérias heteroacetogênicas (grupo II);
- e) Conversão de hidrogênio a metano pelas bactérias metanogênicas utilizando hidrogênio (grupo IIIa);
- f) Conversão de acetato a metano pelas bactérias metanogênicas utilizando acetato (grupo IIIb).

A hidrólise de carboidratos e proteínas não dissolvidos segue caminhos distintos. As bactérias heteroacetogênicas crescem em associações próximas com as metanogênicas durante os estágios finais do processo. A razão disto é que a conversão dos produtos da fermentação pelas heteroacetógenas é termodinamicamente possível somente se a concentração de hidrogênio é suficientemente baixa. Isto requer uma relação simbiótica próxima entre as classes de bactérias (Doble e Kumar, 2005).

2.6 – DECOMPOSIÇÕES E SÍNTESES DA MATÉRIA ORGÂNICA NO SOLO: SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

A decomposição da matéria orgânica no solo tem características muito peculiares, não só pela presença e atividade de macro, meso e microfauna, mas também devido à ação catalítica, ainda pouco conhecida, das argilas e silte nessa decomposição. Poros

grandes e pequenos, contendo água e ar, podem possibilitar processos biológicos aeróbios, microaeróbios e anaeróbios. O sistema chamado de tampão biológico e/ou químico dos solos não degradados resulta de um estado estacionário, no qual a taxa de reciclagem de matéria orgânica e de organismos vivos é constante no tempo (Hayes e Malcolm, 2001). Quando se passa de um sistema de manejo para outro, como de uma floresta para o de plantio direto, há inicialmente um grande aumento do aporte de matéria orgânica, que pode levar ao consumo excessivo de O_2 , e conseqüente anaerobiose, propiciando a redução de metais de transição, como os de $Mn(IV)O_2$ e Fe^{3+} a Mn^{2+} e Fe^{2+} (da Silva, 2001). Ácidos orgânicos de baixas massas molares podem ser formados, como ácido fórmico, acético, oxálico, tartárico, cítrico e butanóico. A decomposição de substâncias facilmente mineralizáveis leva à produção de CO_2 , aumentando as condições de anaerobiose do solo. Outras substâncias de mais difícil decomposição, como por exemplo, estruturas de polifenóis, melaninas produzidas por fungos e actinomicetos e ligninas, resultam na formação de substâncias húmicas. Estes compostos supramoleculares podem ser formados por blocos constitutivos relativamente pequenos se comparados com outras macromoléculas, ligados uns aos outros por forças de van der Waals (interações do tipo π - π e de dipolos permanentes ou induzidos), ligações de hidrogênio e por coordenação com íons metálicos do ambiente como Al^{3+} , Fe^{3+} , VO^{2+} ou Cu^{2+} (Mangrich *et al.*, 2002).

As SH são diferentes de outros biopolímeros do húmus, como carboidratos e proteínas, devido à estrutura molecular e propriedades físicas não definidas e longa persistência no solo (recalcitrância). Absorvem luz visível em uma ampla faixa de comprimento de onda (cor marrom-clara a escura), o que é possibilitado pela presença de cromóforos. Desempenham um papel significativo na formação de agregados, no controle da acidez do solo, no ciclo de elementos nutrientes e na detoxificação de ambientes. As SH são amorfas, parcialmente aromáticas e quimicamente complexas (Mangrich, 1983; Saab, 1999; Novotny *et al.*, 1999). De acordo com a solubilidade em bases e ácidos, as SH são operacionalmente divididas em ácidos húmicos, fúlvicos e humina. Os ácidos

fúlvicos (AF) são solúveis em toda a faixa de pH, os ácidos húmicos (AH) são solúveis em pH básico e estão entre as SH mais estudadas e a humina (HU) é insolúvel em toda a faixa de pH, e é considerada a mais antiga das três frações húmicas (Stevenson, 1994).

Há quatro caminhos distintos (Figura 5) para síntese de substâncias húmicas, que podem ocorrer simultaneamente: amino compostos de síntese microbiana reagem com ligninas modificadas; polifenóis oxidados a quinonas reagem com amino compostos; reação de açúcares redutores com aminocompostos para síntese de macromoléculas complexas que absorvem luz visível em ampla faixa de comprimento de onda (escuras), polimerização de melaninas produzidas por fungos e actinomicetos do solo a partir de estruturas orgânicas simples e, também, por fixação de N_2 do ar (Mangrich *et al*, 1998).

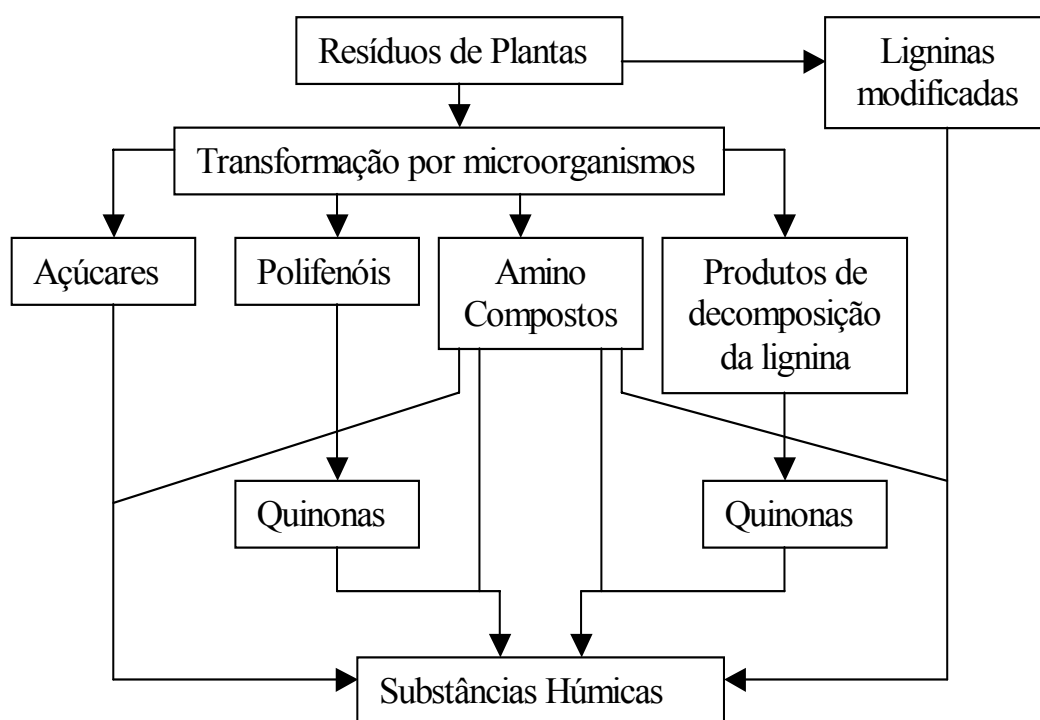


Figura 5 - Mecanismos de formação de substâncias húmicas do solo (Stevenson, 1994)

Os caminhos de síntese envolvem degradação parcial de compostos recalcitrantes como ligninas, suberinas, cutinas, entre outros, bem como de produtos microbiológicos tais como macromoléculas parafínicas de algas e de cutículas de plantas.

Dependendo da suscetibilidade à hidrólise de cada tipo de lignina, diferentes “esqueletos” húmicos podem ser formados com ligninas modificadas de palha de milho/soja/arroz e gramíneas (forrageiras) do plantio direto, bem como da mata do sistema floresta (Saliba *et al.*, 2001). Existem outras características que não podem ser esquecidas, como por exemplo, a associação com compostos inorgânicos durante a modificação de ligninas (Filley *et al.*, 2002), o possível aquecimento devido à decomposição da celulose, durante o preparo do solo com gramíneas para plantio direto, a influência de exudados das raízes do milho que liberam quelantes desfazendo os agregados orgânico-inorgânicos (Piccolo, 1996), a influência das espécies nos produtos de decomposição das plantas (Filley *et al.*, 2002), a influência da maior diversidade microbiana e tampão microbiano na floresta, meso e macrofauna da floresta, como minhocas, e outros organismos da mesofauna, e principalmente a correção do pH, fertilização, e aplicação de agrotóxicos do sistema de plantio direto.

Considerando a lignina, as transformações oxidativas elevam a quantidade de muitos grupos funcionais, principalmente carboxila e carbonila. As partes inalteradas são relativamente não polares e então as moléculas resultantes são anfífilas, como outras que podem ser produzidas a partir da degradação de cutina e lipídios com cadeias alifáticas longas. Moléculas parcialmente degradadas, ligninas desmetiladas, quinonas derivados do catecol e de *para*-difenois, devem fazer parte da humificação, na qual decomposição e síntese ocorrem simultaneamente. A despolimerização oxidativa depende da viabilidade de oxigênio (Budziak, 2002).

O segundo caminho, o processo de condensação abiótica, deveria ocorrer com a completa quebra de ligações de biopolímeros e re-síntese de produtos macromoleculares através de inter-relações entre moléculas reativas. Um exemplo de processo é a oxidação de polihidroxibenzenos a quinonas e os mecanismos de macromolecularização destes

compostos. Todos os caminhos apresentados ainda provocam grande discussão entre pesquisadores de ciência do solo. Há alguns que preferem descrever as substâncias húmicas como uma mistura recalcitrante de produtos de decomposição de plantas e microrganismos, rearranjada pelo processo de extração de solos com ácidos e bases fortes. Há comentários de que não são encontradas evidências que provem que os caminhos citados sejam responsáveis pela síntese de substâncias húmicas na quantidade que se apresentam em solos (Burdon, 2001).

2.7 – A TEORIA SUPRAMOLECULAR PARA SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Entre as novas teorias que surgiram na literatura recente está a teoria supramolecular para SH.

A “química supramolecular” é definida como a “química dos arranjos moleculares e das ligações intermoleculares” e, envolve entidades de grande complexidade que resultam da associação de duas ou mais espécies químicas unidas por forças intermoleculares, que podem ser ligações secundárias, ligações de hidrogênio, interações doador-aceptor (tipo ácido-base de Lewis) ou interações iônicas (Laboratório, 2005). São classificadas como supramoléculas aquelas espécies nas quais as propriedades eletrônicas das subunidades são perturbadas apenas devido à formação das ligações entre elas. As interações intermoleculares podem ser muito pronunciadas, como no caso das espécies formadas pelo empilhamento de moléculas de porfirinas e ftalocianinas, que apresentam condutividade elétrica similar à dos polímeros dopados com metais, sugerindo a presença de um sistema π deslocalizado por toda extensão da pilha. A química supramolecular usa uma abordagem centrada na associação de moléculas, visando a obtenção de uma determinada propriedade ou funcionalidade (Araki e Toma, 2002). A formação de estruturas supramoleculares é um processo espontâneo e não ocorre em etapas, envolvendo o processo conhecido como “reconhecimento molecular”. Automontagem ou “self-assembly” é o principal processo espontâneo que confere ordem aos materiais

moleculares (Moore, 1996). O processo de automontagem molecular envolve interações não covalentes e a construção de supramoléculas é controlada termodinamicamente, levando a estruturas finitas (tais como dímeros unidos por ligações de hidrogênio) ou a supramoléculas extendidas (cadeias lineares, planos bidimensionais ou redes tridimensionais) (Moore, 1996). A química supramolecular vem se desenvolvendo a partir dos avanços de conhecimento sobre a química da funcionalidade de espécies bioquímicas e os novos materiais produzidos por meio deste conhecimento são a base do desenvolvimento da engenharia molecular e da nanotecnologia.

Segundo Piccolo (2001), as SH seriam moléculas pequenas e heterogêneas, de várias origens e auto-organizadas em conformações supramoleculares. As superestruturas húmicas não estariam associadas por ligações covalentes, mas sim seriam estabilizadas somente por forças fracas, tais como interações hidrofóbicas (van der Waals, π - π , e ligações CH- π) e ligações de hidrogênio, estas últimas sendo progressivamente mais importantes em valores decrescentes de pH. Nas organizações húmicas supramoleculares, as forças intermoleculares determinariam a estrutura conformacional das SH, enquanto que a complexidade das interações múltiplas não covalentes controlariam sua reatividade ambiental.

Considerando estes novos conceitos, as definições das diferentes frações das SH poderiam ou deveriam ser revistas. Os AF, por exemplo, seriam associações de pequenas moléculas hidrófilas, nas quais existe um número suficiente de grupos ácidos para manter os “clusters”, por elas formados, dispersos em solução a qualquer valor de pH. Os AH seriam constituídos por substâncias principalmente hidrófobas, tais como cadeias polimetilênicas, ácidos graxos e esteróides, que são estabilizados em pH neutro por forças dispersivas hidrófobas, como por exemplo, van der Waals, π - π , e ligações CH- π . Suas conformações cresceriam gradualmente em tamanho quando ligações de hidrogênio intermoleculares fossem formadas em intensidade crescente em baixos valores de pH, até sua precipitação (Piccolo, 2001).

Diferentemente das estruturas desenvolvidas em laboratório ou em sistemas biológicos, as estruturas húmicas supramoleculares seriam desprovidas de uma funcionalidade programada, embora não isentas de funcionalidade, pois as características químicas que usualmente são associadas aos benefícios agronômicos das SH nos solos, exaustivamente conhecidos, dependem grandemente da conformação destas estruturas. A associação das SH com a fração inorgânica mineral do solo, especialmente com as argilas, poderia ter um papel fundamental no desenvolvimento desta funcionalidade e as argilas poderiam funcionar como verdadeiras matrizes de organização molecular.

Pode-se dizer ainda quanto aos aspectos da gênese das SH, que seria de se esperar que diversos processos e mecanismos estariam envolvidos, podendo prevalecer um ou outro conforme o ambiente estudado, o tipo de solo, sua estrutura e profundidade, tipo de material orgânico e inorgânico envolvido, tipo de ambiente aquático (água doce ou marinha) e alterações antropogênicas.

Existem, na literatura, várias evidências químicas e espectroscópicas das associações supramoleculares de SH (Piccolo, 2001). Investigações por técnicas de supressão de intensidade de fluorescência (quenching) forneceram evidências de microdomínios hidrofóbicos em associações húmicas (Morra *et al.*, 1990; Engebretson e von Wandruszka, 1994). Sierra *et al.* (2006) fracionaram amostras de AF e AH estuarinos por meio de cromatografia líquida de alta performance em fase reversa com detecção por fluorescência e, concluíram que um deslocamento batocrômico dos espectros de emissão das soluções originais, com relação àquelas das frações, seria atribuído a uma maior proximidade destes fluoróforos, possivelmente devido à formação de agregados. Estes resultados confirmaram o conceito de que as macromoléculas húmicas consistem de associações de estruturas menores com características químicas semelhantes.

2.8 - HUMIFICAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS UTILIZADOS NA PLANTAÇÃO DE ARROZ

A estabilidade do húmus na camada arável do solo afeta a quantidade e a qualidade da sua matéria orgânica. Maie *et al.* (1998) desenvolveram um modelo experimental para analisar o efeito da redução do solo, sob condições submersas, sobre a estabilidade do húmus e, concluíram que a redução do ferro foi presumidamente associada com a mudança no tipo de ligação do húmus. Olk *et al.* (2000) investigaram os efeitos de colheitas contínuas de arroz sobre a natureza química da matéria orgânica do solo, verificando que com o aumento da submersão do solo, as frações de ácidos húmicos tornaram-se menos oxidadas ou humificadas, com concentrações altas de enxofre e hidrogênio e baixas de oxigênio, mais grupos amida e amina, hidroxila e metoxila e, menos grupos carboxila e radicais orgânicos livres. Ainda, que os ácidos húmicos extraídos de solos submersos demonstraram ter maior capacidade de complexação com Cu^{2+} , Fe^{3+} e VO^{2+} que àqueles de solos aerados.

2.9 – EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO

A extração de substâncias húmicas do solo através da solubilidade ácido-base (processo de extração padrão IHSS) tem sido criticada por produzir artefatos e produtos diferentes da matéria orgânica original. Uma alternativa é utilizar a metodologia desenvolvida por Cozzolino *et al.* (2001) que utiliza como solução extratora uma mistura de NaOH 1 mol L^{-1} e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ $0,25 \text{ mol L}^{-1}$. Este tratamento salifica os grupos ácidos e, então as bases conjugadas solubilizam-se em água. Após a extração, a adição de HCl é utilizada para neutralizar as cargas e protonar as bases conjugadas.

Pirofosfato de sódio atua como um sal neutro capaz de complexar os metais divalentes e, principalmente os trivalentes como Al^{3+} e Fe^{3+} , rompendo dessa forma, os efeitos de ligações intermoleculares, como as de SH com óxidos metálicos e/ou argilas, e

intramoleculares que fazem com que as SH sejam insolúveis em água. Estes metais são trocados por Na^+ formando o sal orgânico resultante (carboxilato, e/ou fenolato de sódio) solubilizando-se. A Figura 6 traz as estruturas de alguns complexos, e suas respectivas constantes de estabilidade ($\log K$) a 25 °C (Smith *et al.*, 2004), possivelmente formados durante a ação do pirofosfato de sódio no processo de extração, entre os íons Al^{3+} e Fe^{3+} e ligantes fosfato.

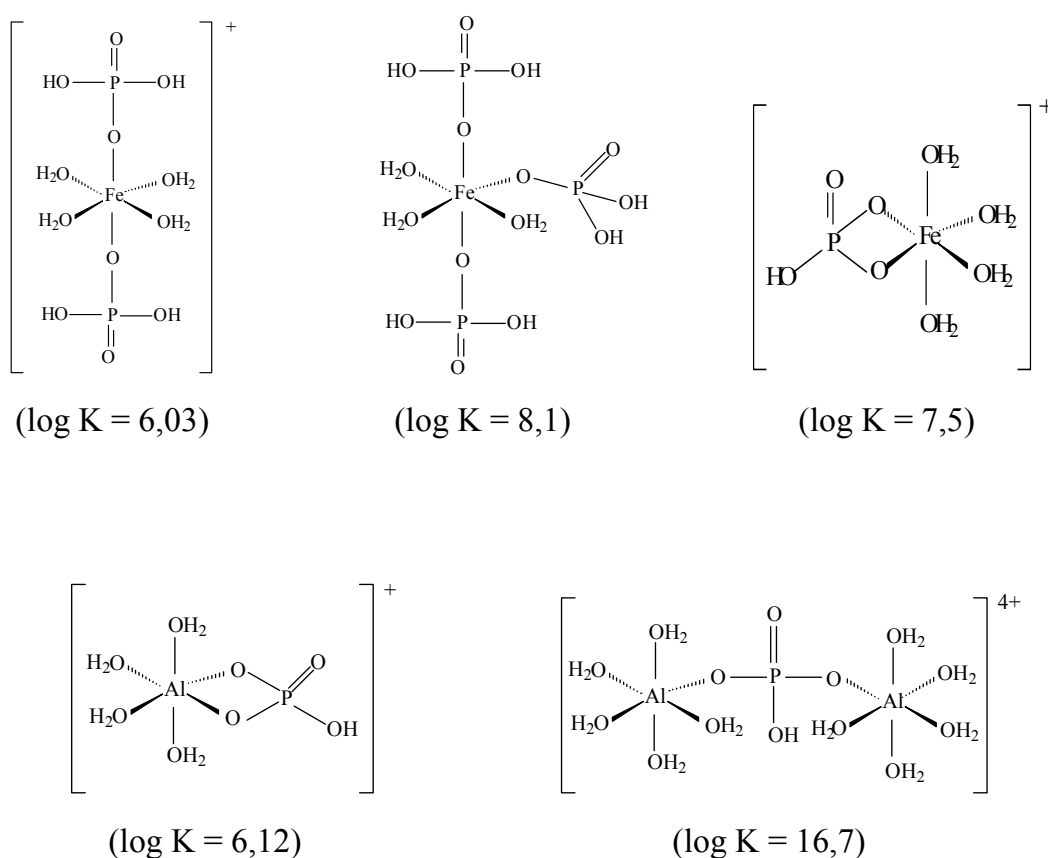


Figura 6 - Estruturas de complexos possivelmente formados durante o processo de extração das SH, entre os íons Al^{3+} e Fe^{3+} e ligantes fosfato e, suas respectivas constantes de estabilidades ($\log K$) a 25 °C (Smith *et al.*, 2004).

Os ácidos fúlvicos (AF) são solúveis em toda a faixa de pH, altamente funcionalizados, contendo cadeias carbônicas aromáticas e alifáticas. Em comparação com outras frações, os AF contêm, proporcionalmente, maior quantidade de grupos ácidos carboxílicos e fenólicos.

Os ácidos húmicos (AH) são solúveis em pH básico e estão entre as SH mais estudadas por terem importantes funções no ambiente e atividades na agricultura, como a de formarem complexos com metais pesados e micronutrientes de plantas, adsorverem agrotóxicos e atuarem no tamponamento do solo. Proporcionalmente, não são tão funcionalizados como os AF.

A humina (HU) é insolúvel em toda a faixa de pH representando mais de 50% do carbono orgânico no solo. Das SH é dita ser a mais estável devido a fortes associações com substâncias minerais, sendo também importante como adsorvente de xenobióticos (agrotóxicos) no ambiente (Stevenson, 1982).

2.10 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

2.10.1 - ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS)

Os elétrons de ligações químicas de substâncias orgânicas normalmente absorvem energia da radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta – visível (comprimento de onda de 190 a 800 nm).

Os grupos funcionais que absorvem tanto radiação UV (190 a 400 nm) quanto a radiação visível, com comprimento de onda de 400 a 800 nm são chamados de cromóforos (Skoog *et al*, 1992). Alguns exemplos são os grupos insaturados covalentes, responsáveis pela absorção eletrônica, como C=C, C=O ou NO₂. Ligados aos cromóforos estão os auxócromos, grupos saturados, ou átomos, que alteram tanto o comprimento de onda como a intensidade da absorção como, por exemplo, OH, NH₂ e Cl (Silverstein *et al*, 1979). Cromóforos e auxócromos estão presentes nas SH.

Os orbitais mais comuns envolvidos nas transições eletrônicas responsáveis pela absorção de luz UV-Vis são os seguintes, na ordem crescente de níveis de energia: orbital sigma ligante (σ) < orbital pi ligante (π) < orbital não ligante (n) < orbital pi antiligante (π^*) < orbital sigma antiligante (σ^*). Os elétrons que não estão formando ligações químicas numa molécula ocupam orbitais n. Os elétrons recebem fótons de luz e são transferidos dos orbitais ligantes, ou não ligantes, para orbitais antiligantes. Assim, uma transição $n \rightarrow \pi^*$ requer luz de menor energia (comprimento de onda maior) que uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$, e esta requer luz de menor energia que para a transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$, que só ocorre na região do ultravioleta de maior energia.

Estruturas orgânicas com ligações conjugadas absorverão tanto mais luz visível (parecerão mais escuras) quanto maior for o tamanho da cadeia conjugada aromática (Figura 7).

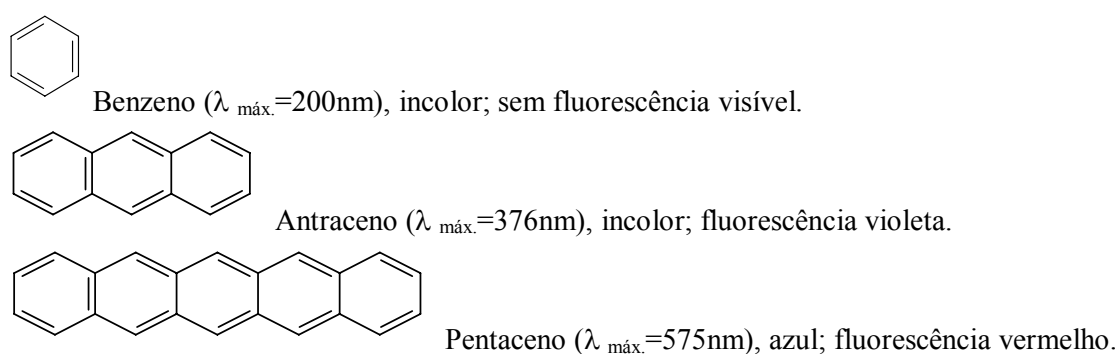


Figura 7 – Comparação do comprimento de onda de absorbância máxima ($\lambda_{\text{máx.}}$), de cor, e de emissão de três moléculas com 1, 3, e 5 anéis benzênicos respectivamente (Silverstein *et al.*, 1979).

Como as estruturas alifáticas conjugadas não são estáveis no ambiente, possivelmente elas somente contribuem para a cor escura das SH “jovens” (Baes e

Bloom, 1989). A proporção entre cadeias alifáticas e aromáticas nas SH é calculada através da razão E_4 (absorbância a 465 nm)/ E_6 (absorbância a 665 nm). Em geral, SH com estruturas mais aromáticas e de mais alta massa molar tem razão E_4/E_6 menores (Novotny *et al.*, 1999).

Uma outra informação importante obtida por meio desta espectroscopia é a razão E_2 (absorbância a 270 nm)/ E_4 (absorbância a 407 nm), que é utilizada para distinguir a origem da matéria orgânica, se de fonte terrestre ou aquática. A absorção E_2 refere-se a estruturas oriundas de ligninas de plantas terrestres e a E_4 , a estruturas de porfirinas, normalmente ligadas a MO de origem aquática. Quando essa razão apresenta valores baixos pode indicar que a SH é predominantemente de origem aquática, enquanto que valores altos sugerem formação por fonte terrestre (Fooker e Liebezeit, 2000).

Sabe-se que a aplicação desta técnica em amostras em solução pode apresentar problemas. Um deles seria que somente parte das SH dissolvidas estaria efetivamente na solução, resultando em uma análise que não refletiria completamente a realidade sobre o todo. Uma saída para solucionar tal problema seria analisar as amostras no estado sólido pela técnica por reflectância difusa (DR UV-VIS). Algumas diferenças, como o formato dos espectros e os valores das razões E_4/E_6 e E_2/E_4 , podem ocorrer, visto que no estado sólido haveria, além da contribuição da policondensação aromática em moléculas isoladas, também a contribuição destas moléculas juntamente empacotadas (Figura 8).

A DR UV-VIS tem sido freqüentemente usada na análise de solos inteiros (íntactos). Esta técnica é muito útil na previsão rápida de propriedades para descrever a variabilidade de solos utilizados em agricultura, classificação de solos e, monitoramento ambiental (Sanchez *et al.*, 2003; Kamrunnahar *et al.*, 2005; Rossela *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2006). Entretanto, há uma escassez de trabalhos na literatura sobre o uso da DR UV-VIS em SH extraídas em laboratório. Mesmo assim, há alguns trabalhos, neste sentido, utilizando este método em monitoramento da MO obtida por processo de compostagem (Budziak, 2002; da Paixão, 2003) e de SH extraídas de solos (Mangrich *et al.*, 2004; Ignácio, 2005; Olendzki *et al.*, 2006 a; Ignácio *et al.*, 2006).

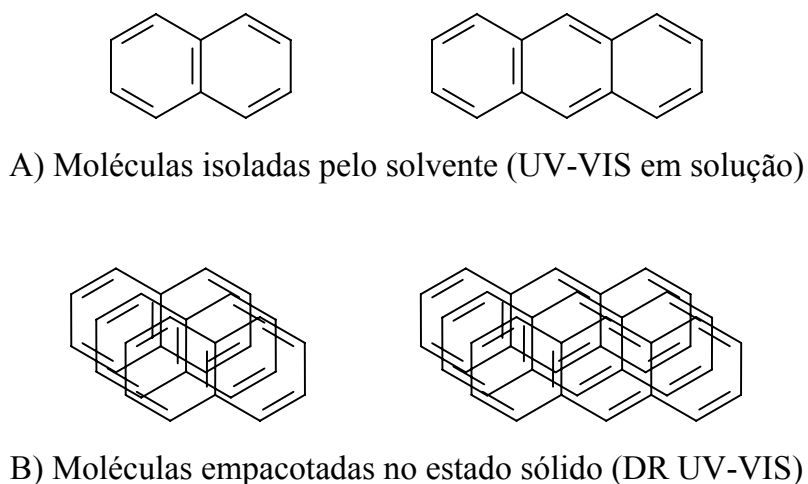


Figura 8 - Representação de moléculas aromáticas policondensadas A) em solução e B) no estado sólido.

2.10.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

A interação da radiação infravermelha com uma molécula envolve a interação de um componente oscilante do campo elétrico da radiação com o momento dipolo oscilante da molécula. Assim, para moléculas absorverem radiação infravermelha como energia de excitação vibracional é necessário haver mudança em seu momento dipolo e, quando há esta modificação, os compostos absorvem radiação em certas regiões do espectro, conseqüentemente o estiramento de moléculas diatômicas homonucleares não possui absorção no infravermelho. A Figura 9 mostra alguns tipos de vibrações que ocorrem em moléculas simples.

As análises por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) têm sido usadas nos estudos das SH (Stevenson, 1994; Inbar *et al.*, 1989) para identificar grupos funcionais, como os de ácidos carboxílicos, aminas, amidas, estruturas alifáticas e aromáticas e grupos hidroxilas (Paim *et al.*, 1990). As informações obtidas auxiliam a descrever a natureza dos grupos funcionais nos AH das mais diversas origens.

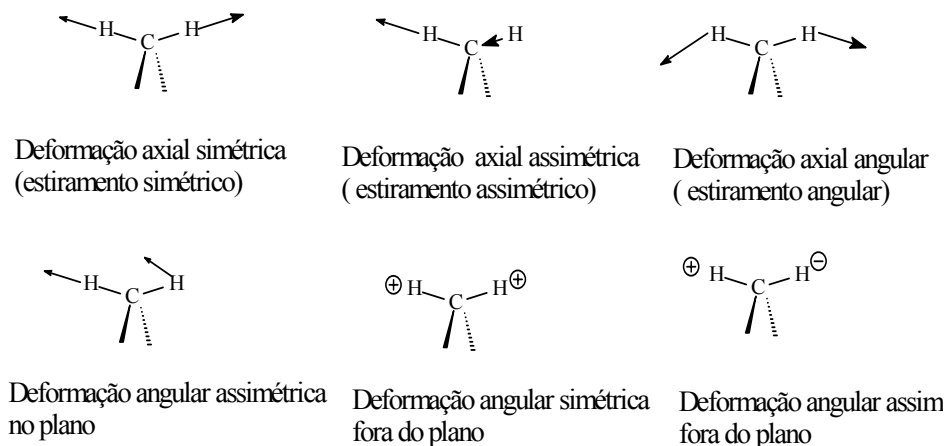


Figura 9 - Algumas vibrações de um grupo metileno (Silverstein *et al.*, 1979).

Outras aplicações da técnica espectroscópica de FTIR estão relacionadas com a investigação de possíveis trocas nas estruturas químicas das SH e na indicação de interações com pesticidas, metais e argilas nos ambientes aquáticos, terrestres e na investigação de solos *in situ* (Senesi e Steelink, 1989; Martin-Neto *et al.*, 1994; Arocena *et al.* 1995; Kononova, 1966; Schnitzer e Khan, 1978; Bravard e Righi, 1991; Martin-Neto *et al.*, 1991). Uma informação estrutural obtida através do espectro IV requer, em geral, confirmações através da utilização de outras técnicas. Isto porque uma determinada vibração molecular pode representar mais de um grupo funcional.

Os problemas associados com o método por transmitância (T) onde se faz o uso de pastilha prensada são numerosos. O Brometo de Potássio (KBr) é higroscópico e, é muito difícil preparar-se uma pastilha completamente livre de umidade. A absorção de água pelo KBr pode resultar no alargamento da banda centrada em 3400 cm^{-1} devido à formação de ligações de hidrogênio. Observa-se também que as interferências provenientes da absorção de H_2O são diminuídas ao utilizar-se o método DRIFT (Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Difusa com Transformada de Fourier) (Stevenson, 1994).

As altas pressões e temperatura durante o processo de preparação da pastilha podem alterar as naturezas física e química das SH, como, por exemplo, através da

decomposição e ionização dos grupos COOH e dos grupos OH fenólicos (Baes e Bloom, 1989).

As razões das somas das alturas de picos para carbonos aromáticos (3050, 1610, e 1530 cm^{-1}) e carbonos alifáticos (2930, 2850, 1450, 1150 e 1074 cm^{-1}) também têm sido utilizadas na análise dos espectros de DRIFT (Ding *et al.*, 2002; Wander e Traina, 1996). Com essa razão podem-se estimar as estruturas relativas das SH.

2.10.3 - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica é uma técnica bastante sensível, não destrutiva e diz respeito à detecção de elétrons desemparelhados de uma amostra, em fase líquida ou sólida, e à caracterização de seu ambiente químico (Nakagaki, *et al.*, 1997).

A EPR é um ramo da espectroscopia na qual a radiação, na frequência de microondas, é absorvida por moléculas, íons ou átomos possuindo elétrons com spins desemparelhados (centros paramagnéticos). Substâncias diamagnéticas, ou seja, aquelas que não possuem elétrons desemparelhados, não podem ser detectadas por esta técnica e, portanto não interferem nos experimentos envolvendo substâncias paramagnéticas. Por não haver a necessidade de grandes quantidades de amostras os experimentos realizados em Banda-X (frequência em torno de 9,5 GHz) utilizam tubos de quartzo de 3 mm de diâmetro que são preenchidos com cerca de 20 mm de altura de amostra. É uma técnica extremamente sensível e sob condições favoráveis o limite de detecção para centros paramagnéticos encontra-se no intervalo de 10^{11} a 10^{12} spins g^{-1} , o que equivale à parte por bilhão (Goodman e Hall, 1994).

Além da quantificação e identificação de radical livre orgânico (RLO), a espectroscopia de EPR pode fornecer outros parâmetros espectroscópicos como o fator g, largura de linha e saturação de potência do sinal do radical livre que podem dar

informações detalhadas sobre as SH (Martin-Neto *et al.*, 1994; Saab e Martin-Neto, 2004; Merdy *et al.*, 2003).

O valor de g pode ser calculado a partir da posição da linha de ressonância no espectro:

$$g = h.\nu/\beta$$

Haverá transição entre dois estados de spin quando a frequência (ν) da radiação de microondas satisfaz a equação:

$$\Delta E = h.\nu = g\beta eH$$

onde: h = constante de Planck; β = magneton de Bohr; H = campo magnético efetivo; ν = frequência; g = fator de proporcionalidade;

Em compostos contendo átomos leves, como radicais livres orgânicos (RLO), o valor de g é próximo ao g do elétron livre ($g_e = 2,0023$), na faixa de 2,0020 a 2,0060. Em espécies químicas constituídas por átomos paramagnéticos mais pesados, como os dos íons dos metais de transição, esses acoplamentos são maiores e os valores de g sofrem uma variação maior (Guimarães, 1997).

A equação acima se refere a uma descrição muito simples do sistema. Na realidade a expressão das energias é mais complexa devido aos acoplamentos com os dipolos magnéticos do núcleo e fatores anisotrópicos que resultam nas chamadas interações hiperfinas. O número de linhas da interação hiperfina é dado pela multiplicidade dos estados de spin nuclear: $2I + 1$, onde I é o número quântico de spin nuclear. Na Figura 10 observa-se, um desenho esquemático da aplicação de um campo magnético sobre um elétron gerando o sinal observado no EPR.

Quando se obtêm os espectros de amostra sólidas ou congeladas, temos variações no fator g . Se considerarmos o fator g como um tensor (g_{xx} , g_{yy} , g_{zz}) que está relacionado com os eixos da molécula, em solução (sistema isotrópico) o g seria igual às

componentes ($g = g_{xx}, g_{yy}, g_{zz}$) . Contudo para sistemas com baixa simetria, g é diferente resultando nas absorções observadas na Figura 11, onde para as moléculas axiais $g_{xx} = g_{yy} \neq g_{zz}$; $g_{zz} = g_{\parallel}$; $g_{xx} = g_{yy} = g_{\perp}$ (Mangrich, 1998).

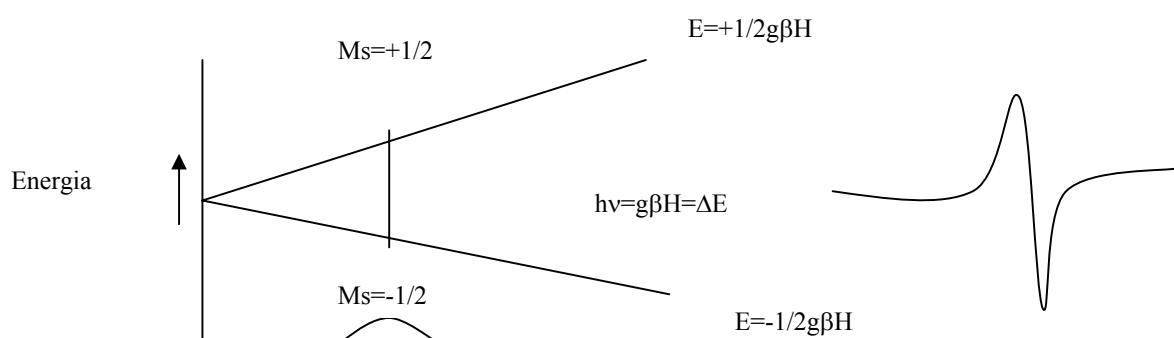


Figura 10 - Efeito da aplicação de um campo magnético sobre os níveis de energia de um elétron ($S=1/2$) e o sinal de absorção em primeira derivada observada no EPR (Mangrich, 1998).

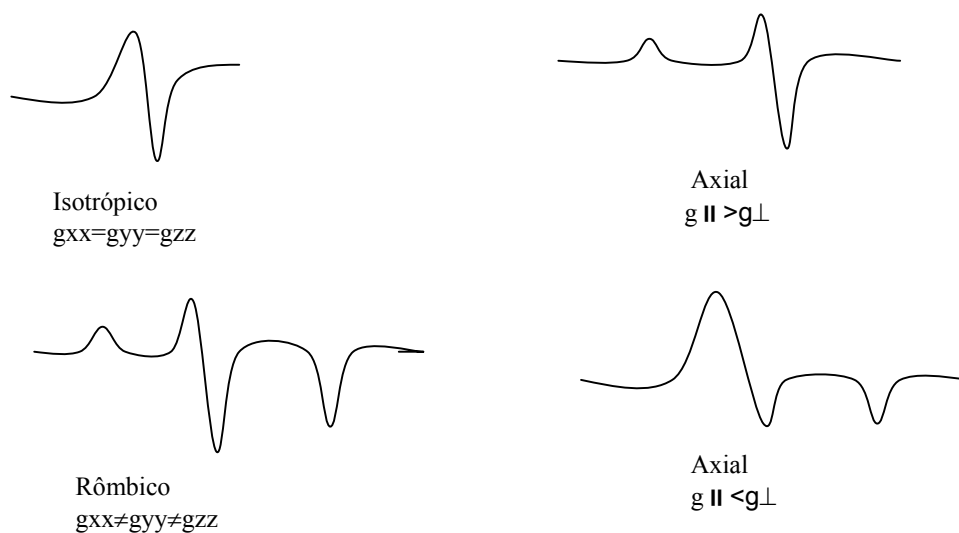


Figura 11 - Diferentes espectros de EPR de materiais condensados com relações aos respectivos g (Mangrich, 1998).

A técnica de EPR é capaz de fornecer também informações estruturais sobre a formação de complexos dos íons metálicos com as substâncias húmicas. Pode também, detectar radicais livres e o grau de humificação da matéria orgânica (Guimarães *et al.*, 2001).

2.10.3.1 - RELAXAÇÃO E SATURAÇÃO DE POTÊNCIA

O ensaio de saturação de potência prevê a coleta de uma coleção de espectros de EPR, na região dos radicais livres de semi quinona ($g \sim 2,0$), para cada amostra, onde em cada registro varia-se crescentemente a potência de microonda incidente nas amostras. Para cada valor de potência, um tempo de relaxação spin-rede (T_1) está envolvido. A partir de um dado momento é atingido um valor que iguala as populações de spins nos estados fundamental e excitado, extinguindo o sinal. O T_1 envolve a transferência de energia do sistema de spin para os átomos ou moléculas vizinhas a rede. Quando se observa um valor de potência de saturação maior, o T_1 é menor, significando que a MO analisada é mais estruturada (tamanho molecular maior).

Para muitos detectores usados em EPR a amplitude do sinal é proporcional a $P^{1/2}$ (onde P é a potência de microonda) antes da saturação do sinal. O aumento da potência da microonda resulta em um aumento da transição entre os dois níveis de energia, isto é, o tempo de vida do spin diminui. Assim, o principal alargamento da linha da ressonância, ΔH , devido ao princípio da incerteza de Heisenberg, é: (Eisberg e Resnick, 1988)

$$\Delta E \cdot \Delta t \approx h/2\pi; \quad h\Delta\nu = g\beta\Delta H$$

$$g\beta\Delta H\Delta t = h/2\pi; \quad \Delta H = h/2\pi g\beta\Delta t$$

$$\Delta H \approx 1/\gamma\Delta t$$

onde γ é a razão giromagnética do elétron e Δt é o tempo de vida do spin. Há duas formas de saturação de potência de um sinal, chamadas homogênea e não homogênea. A saturação homogênea ocorre quando todos os centros paramagnéticos ressonam ao mesmo campo magnético e a curva de saturação cai para zero quando aumenta a potência da microonda (Figura 12). A não homogênea ocorre quando há um envelope de linhas ressonando em campos próximos e a sua curva de saturação chega a um patamar constante quando a potência aumenta acima do valor de linearidade, como mostra a Figura 12 (Czoch e Francik, 1989).

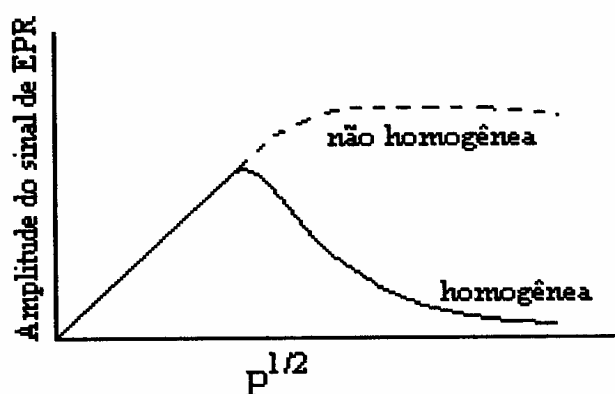


Figura 12 - Curva de saturação de potência do sinal de EPR, mostrando as formas de saturação homogênea e não homogênea (Czoch e Francik, 1989).

Essa técnica tem sido utilizada na investigação da estruturação da matéria orgânica de solos e resíduos de ligninas da palha de trigo (Saab e Martin-Neto, 2004; Merdy *et al.*, 2003).

2.10.4 - ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

A fluorescência é um fenômeno luminescente no qual as espécies atômicas ou moleculares são excitadas por radiações eletromagnéticas nas regiões do UV ou do visível

e, quando retornam ao estado fundamental, fornecem um espectro de radiações que são emitidas em comprimentos de onda superiores ao fixado para a excitação. A medida da intensidade de fluorescência permite a determinação quantitativa de uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos em níveis traço, com limites de detecção cerca de três ordens de magnitude menores que aqueles encontrados em fenômenos de absorção.

Compostos orgânicos contendo grupos funcionais aromáticos fornecem valores superiores de intensidade de fluorescência em comparação aos demais tipos de estruturas químicas. Isto ocorre devido à maior possibilidade de ocorrência de transições do tipo π - π^* de baixa energia. Para a maioria dos compostos fluorescentes, a radiação emitida pode ser produzida tanto por transições n - π^* quanto por π - π^* , dependendo de qual será menos energética. Compostos contendo estruturas alifáticas e alicíclicas ou estruturas altamente conjugadas também exibem fluorescência, porém com intensidades inferiores em comparação aos sistemas aromáticos. Além disso, a intensidade de fluorescência mostra-se superior em sistemas aromáticos que apresentam um maior grau de condensação, ou seja, quanto maior o número de anéis aromáticos, maior será também a eficiência do processo de fluorescência.

É sabido que não existe uma definição clara com respeito à composição química e estrutural da matéria orgânica do solo. Sabe-se, por exemplo, que os principais constituintes deste material são as substâncias húmicas. Porém, a estrutura química destas substâncias ainda é indefinida, pois existem grandes variações com relação à sua composição elementar, massa molar e concentração e tipos de grupos funcionais.

Inúmeros estudos demonstram que a elucidação da estrutura química destas substâncias pode ser investigada por meio de fenômenos de fluorescência. (Plaza *et al.*, 2006; Bertoncini *et al.*, 2005; Sierra *et al.*, 2005a; Senesi *et al.*, 1991). Diante deste fato, muitas considerações e algumas hipóteses fundamentais têm sido estabelecidas a partir de diversos estudos envolvendo a caracterização da MOS. Sabe-se, por exemplo, que a intensidade de fluorescência é inversamente proporcional ao tamanho dos agregados orgânicos. Em sistemas aromáticos, a presença de grupos receptores de elétrons promove

uma diminuição da emissão de fluorescência enquanto que grupos doadores de elétrons provocam um aumento da intensidade emitida. Substituintes contendo carbonilas, assim como grupos hidroxílicos, alcoxílicos e aminos tendem a provocar um deslocamento da fluorescência para maiores comprimentos de onda (Peuravouri *et al.*, 2002).

O equipamento mais comumente empregado para realização de experimentos envolvendo fluorescência é denominado espectrofotômetro de fluorescência ou espectrofluorímetro. É, basicamente, constituído de uma fonte de excitação que emite radiações nas regiões do UV e do visível de modo contínuo em uma cela de quartzo multifacetada que comporta a amostra no estado líquido, filtros ou monocromadores localizados antes e após a amostra, tubos fotomultiplicadores que recebem a radiação emergente e a radiação de referência e, finalmente, um detector apropriado. A radiação emergente é colhida em ângulo reto em relação à radiação incidente, diferentemente do que ocorre nos espectrofotômetros de absorção, onde o ângulo é o dobro disto. Vários tipos totalmente distintos de espectros podem ser obtidos através deste equipamento. As modalidades de fluorescência que mais têm sido utilizadas em estudos relativos às SH são a emissão, a matriz excitação-emissão (MEE) e a sincronizada.

2.10.4.1 - MODALIDADE EMISSÃO

Para se obter um espectro de emissão de fluorescência, em geral costuma-se definir um comprimento de onda específico para excitação dos componentes da amostra. Esta radiação incidente é definida como aquela em que a amostra absorve com maior intensidade em seu espectro de absorção. Mantendo-se fixo este comprimento de onda de excitação, são registrados os comprimentos de onda e as intensidades das emissões provenientes da relaxação dos componentes da amostra.

Esta modalidade de fluorescência tem sido empregada em estudos envolvendo a caracterização da matéria orgânica em águas naturais, de origem estuarina e solos (Frimmel, 1998; Chen *et al.*, 2002; Sierra *et al.*, 2006; Bertoncini *et al.*, 2005).

A Figura 13 mostra um espectro de emissão de fluorescência típico para uma solução de ácido húmico.

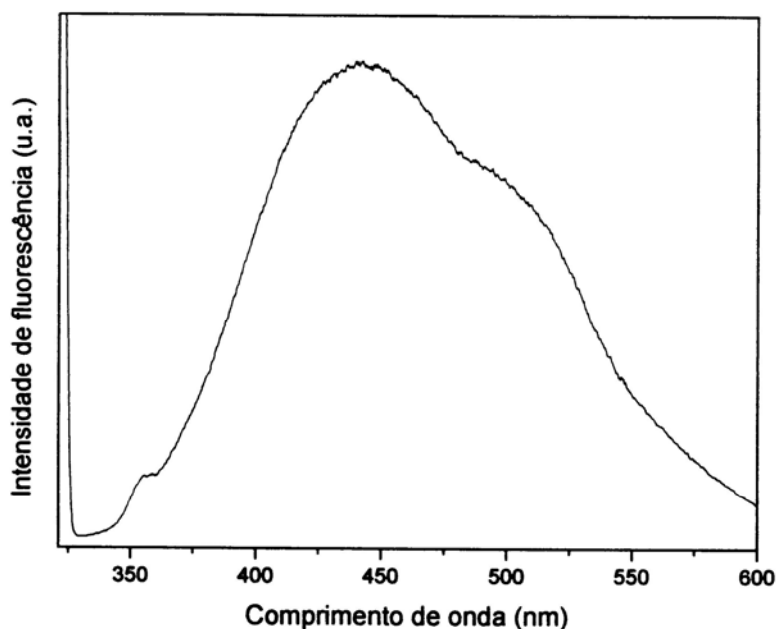


Figura 13 - Espectro de emissão de fluorescência para uma solução de ácido húmico comercial. $\lambda_{\text{exc}} = 315 \text{ nm}$ (Sodré *et al.*, 2004).

Na Figura 13 observa-se que, quando uma amostra de ácido húmico é excitada, o espectro de emissão resultante é caracterizado pelo aparecimento de uma banda que ocupa uma extensa região a partir da radiação incidente. Esta região é denominada “deslocamento de Stoke”. Observa-se também que intensidade máxima de fluorescência, em unidades arbitrárias, aparece centrada em torno de 440 nm. A pequena banda centrada em 355 nm é atribuída ao espalhamento Raman e a elevada intensidade de emissão que ultrapassa os limites do eixo das ordenadas no início da faixa espectral é decorrente do efeito de ressonância resultante da radiação incidente. Westerhoff e Anning (2000) avaliaram as características espectroscópicas de substâncias húmicas aquáticas de referência (IHSS) e de amostras de águas naturais coletadas em diversos rios do Estado do Arizona, nos EUA. Com base em espectros de emissão de fluorescência os autores

puderam verificar que amostras mais humificadas apresentavam maiores comprimentos de onda de máxima emissão.

2.10.4.2 - MODALIDADE MATRIZ EXCITAÇÃO-EMIÇÃO (MEE)

Esta modalidade baseia-se na obtenção de um espectro tridimensional a partir de vários espectros individuais de emissão. Os diferentes laboratórios, que estudam SH por fluorescência, utilizam frequentemente diferentes valores de λ_{exc} e λ_{em} , dificultando uma comparação entre estudos distintos. Por esta razão, uma “impressão digital” consistente das SH obtidas por fluorescência, ainda não foi bem estabelecida (Sierra *et al.*, 2005a). A modalidade MEE produz espectros em vários λ_{exc} fornecendo uma visão geral de todas as estruturas existentes no interior de uma faixa espectral selecionada (Sierra *et al.*, 2005a).

Pode-se obter um espectro MEE a partir do processamento dos dados espectrais por meio de um programa gráfico, embora alguns equipamentos mais modernos já incluam esta modalidade. A Figura 14 mostra um espectro MEE obtido para uma solução de ácido húmico comercial.

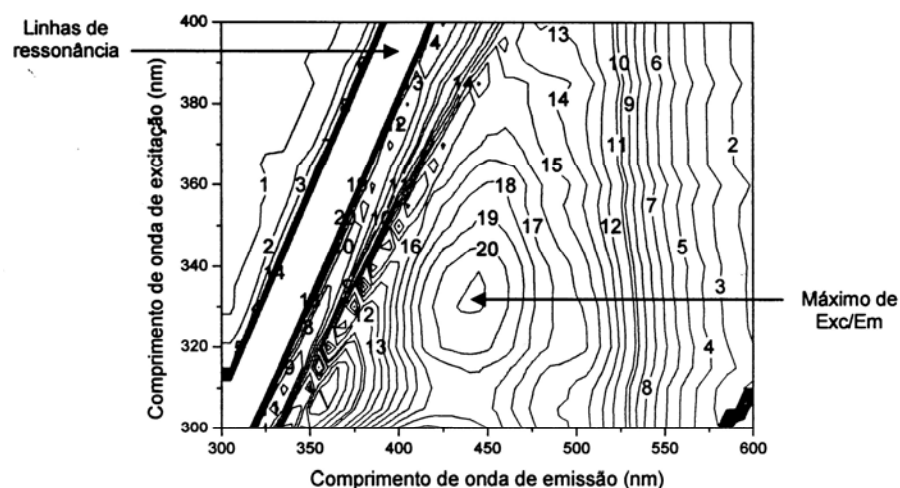


Figura 14 - Espectro de excitação-emissão obtido para uma solução de ácido húmico comercial (Sodré, 2005).

A Figura 14 mostra um gráfico tridimensional formado por uma matriz de dados espectrais de excitação-emissão adquiridos a partir de uma solução de ácido húmico comercial. O espectro foi obtido por meio da excitação da amostra em diversos comprimentos de onda que variaram entre 300 e 400 nm, sendo que a emissão resultante para cada radiação incidente foi monitorada na faixa espectral entre 300 e 600 nm. Os valores de intensidade de emissão de fluorescência aparecem sob a forma de curvas de nível. Neste caso, observa-se que o valor de máxima emissão foi obtido com a radiação incidente fixada, exatamente, em 330 nm. Pode-se observar ainda, no canto superior esquerdo do gráfico, uma extensa faixa de emissão proveniente da ressonância das radiações incidentes.

Esta técnica tem sido utilizada, com sucesso, na diferenciação estrutural de SH extraídas de solos, com e sem adubação com rejeitos orgânicos (lodos) (Bertoncini *et al.*, 2005; Plaza *et al.*, 2006), no estudo das reações de complexação de metais, como Cu^{2+} , Zn^{2+} e Ni^{2+} por SH extraídas de solos, turfas e compostos (Plaza *et al.*, 2005; Provenzano *et al.*, 2004) e na avaliação dos impactos da aplicação de diferentes manejos sobre a matéria orgânica de solos utilizados no cultivo de arroz (Olendzki *et al.*, 2006b).

2.10.4.3 - MODALIDADE SINCRONIZADA

A fluorescência sincronizada tem sido bastante empregada devido à possibilidade de se obter informações adicionais com relação à constituição estrutural de compostos orgânicos em comparação às modalidades convencionais de emissão e excitação. (Senesi, 1990b; Pullin e Cabaniss, 1995; Chen *et al.*, 2003). A técnica sincronizada foi sugerida pela primeira vez por Lloyd (1971a). Neste tipo de modalidade de fluorescência, os comprimentos de onda de excitação e de emissão são monitorados de forma sincronizada com um intervalo constante entre ambos, onde $\Delta\lambda = \lambda_{\text{em}} - \lambda_{\text{exc}}$. O valor de $\Delta\lambda$ foi

primeiramente definido pela diferença entre os comprimentos de onda de excitação e emissão máximos obtidos em uma varredura empregando a modalidade MEE.

Empregando este valor de $\Delta\lambda$ em amostras contendo uma grande variedade de compostos orgânicos, como no caso das substâncias húmicas, as chances de ocorrência de sobreposição de picos aumentam, provocando distorções no sinal de fluorescência. Entretanto, a resolução de um espectro de fluorescência sincronizada pode ser comprimida ou expandida simplesmente diminuindo ou aumentando o valor de $\Delta\lambda$ (Vo-Dinh, 1978). Sabe-se que a diminuição do intervalo entre os comprimentos de onda de excitação e emissão reduz drasticamente a sobreposição de sinais. Lloyd (1971b) sugeriu um valor de $\Delta\lambda$ entre 20 e 30 nm para detecção de compostos aromáticos condensados. A Figura 15 mostra um espectro de fluorescência sincronizada obtido para uma solução de ácido húmico comercial.

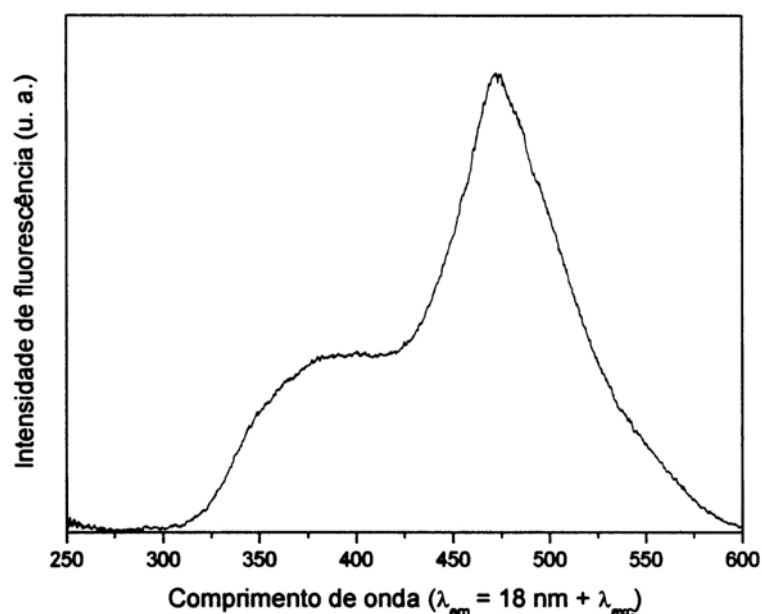


Figura 15 - Espectro de fluorescência sincronizada para uma solução de ácido húmico comercial, $\Delta\lambda = 18 \text{ nm}$ (Sodré, 2005).

Pode ser observado na Figura 15 que o espectro de fluorescência empregando a modalidade sincronizada apresenta um comportamento distinto em comparação ao espectro de emissão obtido para uma solução de ácido húmico comercial (Figura 13). Neste caso pode ser observado um pico de máxima intensidade de fluorescência centrado em 475 nm. A presença de picos nesta região espectral tem sido atribuída a substituintes doadores de elétrons em substâncias húmicas extraídas de solos e águas naturais (Miano *et al.*, 1988; Senesi, 1990b). Além disso, bandas localizadas de 440 a 480 nm tem sido comumente atribuídas à presença de compostos orgânicos humificados de elevada massa molar ou ainda, que apresentam elevado grau de condensação (Chen *et al.*, 2003). Na Figura 15 nota-se ainda uma banda na região entre 350 e 400 nm.

De uma maneira geral, compostos aromáticos que apresentam um elevado grau de condensação tendem a fluorescer em maiores comprimentos de onda. Entretanto, deve-se levar em consideração a presença de diferentes substituintes que podem provocar, tanto um deslocamento de picos quanto algumas oscilações na intensidade de fluorescência.

2.10.5 - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR)

Os principais grupos de carbono detectados por ^{13}C -NMR no estado sólido em substâncias húmicas e suas respectivas faixas em que aparecem nos espectros são C alquílico (0-44 ppm), C metoxílico (44-62 ppm), C alquílico ligado a O (62-110 ppm), C aromático ligado a H ou C (110-142 ppm), C aromático ligado a N ou O (142-155 ppm), C de grupos carboxílicos (155-185 ppm) e C de grupos carbonílicos (185-230 ppm).

A faixa de C alquílico (0-44 ppm) é geralmente atribuída a carbonos alifáticos em cadeias alquílicas (Schnitzer and Preston, 1983, 1986). Na região de C alquílico ligado a O (44-110 ppm), carbonos alifáticos substituídos por oxigênio são usualmente observados, incluindo carbonos em anéis de carboidratos (Hatcher *et al.*, 1980) e carbonos anoméricos também de carboidratos estando normalmente associados com

ligninas (Hatcher, 1987). A região de C aromáticos (110-155 ppm) é atribuída a unidades aromáticas contidas em ligninas e fenóis (Hatcher, 1987; Baldock and Preston, 1995). A faixa entre 155-185 ppm atribuída aos C carboxílicos é constituída por ácidos carboxílicos, amidas e ésteres (Hatcher *et al.*, 1980). Finalmente a região de C carbonílico (185-230 ppm) origina-se de grupos químicos derivados de aldeídos e/ ou cetonas.

As primeiras tentativas de uso da espectroscopia de NMR para a caracterização estrutural das SH foram reportadas por Barton e Schnitzer (1963) e Neyroud e Schnitzer (1972). Na década de 90, espectros de ^{13}C com polarização cruzada e rotação em torno do ângulo mágico (^{13}C CPMAS NMR) de solo inteiro foram reportados por Wilson (1990) e, desde então a NMR no estado sólido tem sido a técnica mais utilizada para estudos estruturais da matéria orgânica ambiental (Gondar *et al.*, 2005; Dick *et al.*, 2005; Ussiri e Johnson, 2003; Guignard *et al.*, 2005).

Cabe ressaltar que, neste trabalho, os espectros de NMR não foram realizados, mas dados de espectros já existentes (Pereira, 2004) foram utilizados na confecção de um modelo PLS utilizado para fazer previsões dos conteúdos de tipos de carbono nas amostras aqui estudadas (seção 5.6).

2.11 - DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (XRD)

Os raios X foram descobertos por Röntgen em 1885. Dezesete anos depois, Max von Laue sugeriu que poderiam ser difratados por um cristal, pois percebeu que os respectivos comprimentos de onda eram comparáveis às separações entre planos da rede do cristal. Os raios-X, radiação eletromagnética com comprimento de onda da ordem de 10^{-10} m, são gerados pelo bombardeio de um metal por elétrons de alta energia. Os elétrons são desacelerados ao penetrar no metal e geram uma radiação num intervalo contínuo de comprimento de onda, conhecida como a radiação de frenamento.

Os máximos de difração de raios X, devido à interferência construtiva em uma família de planos de uma rede cristalina, ocorrem quando a direção de uma onda

incidente, medida em relação à superfície de um plano de átomos, e o comprimento de onda da radiação obedecem à lei de Bragg:

$$n\lambda = 2 d \sin \theta$$

onde d é a distância entre os planos, θ é o ângulo de incidência, n as ordens das reflexões e λ é o comprimento de onda do raio X. A lei de Bragg é usada primordialmente na determinação do espaçamento entre os planos da rede do cristal, pois a distância d pode ser calculada quando θ for determinado experimentalmente.

A técnica de difração de pó é usada para identificar amostras de substâncias sólidas, comparando-se as posições e intensidades das linhas de difração com as de um grande número de dados devidamente registrados (Atkins, 1999), assim a técnica é útil na identificação de minerais e elucidação de suas estruturas. Tentativas de caracterização por XRD no estudo das SH têm sido feitas e, geralmente o padrão da difração dos AH mostra bandas largas entre 3,5 e 4,3 Å. Esta técnica tem sido utilizada com sucesso para diferenciar estruturas alifáticas e aromáticas dos AH (Schnitzer *et al.*, 1991; Chen e Pawluk, 1995; Xing e Chen, 1999). Já para huminas a XRD em pó mostrou ser uma importante ferramenta na caracterização da matriz inorgânica que deve estar associada à matéria orgânica (Naidja *et al.*, 2002; Laird *et al.*, 2001).

2.12 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR (C, H, N, O)

O analisador elementar consiste em uma aplicação da cromatografia gasosa. Resumidamente as amostras são pesadas (usualmente 1 mg) num recipiente de estanho e são lançadas em intervalos de tempo predeterminados em um tubo de quartzo vertical mantido a 1000°C, através do qual flui uma corrente de hélio gasoso. Quando as amostras entram no tubo, a corrente de hélio é momentaneamente enriquecida com oxigênio puro e ocorre uma combustão instantânea. A mistura dos gases passa por Cr₂O₃, a fim de se ter a

combustão quantitativa, e depois sobre Cu a 650 °C, a fim de remover o excesso de oxigênio e reduzir os óxidos de nitrogênio a N₂. Finalmente a mistura de gases que se obtêm passa por uma coluna cromatográfica, aquecida aproximadamente a 100 °C. Os componentes individuais (N₂, CO₂, H₂O) são separados e eluídos até um detector de condutividade térmica. O sinal do detector é enviado a um registrador com integrador. O instrumento é calibrado pela combustão de padrões (Vogel, 1992).

As análises de C, H, N, e O são importantes para se inferir a respeito do tipo de estrutura e funções orgânicas das moléculas que compõem os AH de diferentes ambientes. Por exemplo, valores altos da razão atômica H/C sugerem estruturas mais alifáticas, enquanto que valores baixos podem ser devido a estruturas mais aromáticas.

Valores elevados da razão atômica O/C indicam AH mais humificados e com mais funções carboxílicas e/ou fenólicas que são hábeis em formarem complexos com ácidos duros tais como os íons Al³⁺ e Fe³⁺. Razões N/C mais altas sugerem maiores teores de estruturas de proteínas e/ou de porfirinas nos AH que são mais hábeis em formar complexos com ácidos mais moles como os íons Co²⁺ e Cu²⁺ (Budziak, 2002).

Esta técnica tem sido utilizada na investigação de SH de ambientes aquáticos (Sierra *et al.*, 2005b), na caracterização de ácidos húmicos e MO extraída de huminas provenientes de solos com cultivo de arroz (Jianzhong *et al.*, 2005) e, de AH extraídos de diferentes tipos de solo (Barancikova *et al.*, 1997).

2.13 – ANÁLISE DE METAIS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ACOPLAMENTO INDUZIDO (ICP-AES)

A espectrometria de emissão atômica com plasma de acoplamento induzido, (ICP-AES) (do inglês Inductively Coupled Atomic Emission Spectrometry), é uma técnica analítica que pode ser utilizada para determinação de elementos em níveis de traços, baseada nos espectros de emissão dos mesmos. Resultados analíticos favoráveis são obtidos na prática para aproximadamente 70 elementos, com limites de detecção

geralmente alcançando níveis de ppb (partes por bilhão) sendo a maioria das amostras introduzidas na forma de soluções aquosas (Santos, 1999).

Nesta técnica a solução da amostra é nebulizada em uma fonte de energia, ou seja, o plasma de argônio induzido. Esta fonte não age somente para atomizar a amostra, mas também excita os átomos assim formados para emitir suas linhas espectrais características. A intensidade das linhas emitidas é uma função da concentração de átomos na fonte excitante e do conteúdo da amostra (Alloway, 1990). Para conduzir um método analítico o analista deve escolher um nível de potência no plasma, o comprimento de onda de cada elemento e a altura de observação do plasma para cada elemento (Vogel, 1992).

O sucesso deste método é devido principalmente à capacidade de uma análise multielementar e a determinação com uma faixa ampla de concentração dos elementos em uma mesma amostra. A alta temperatura e a atmosfera inerte do gás argônio do plasma também diminuem as interferências químicas da matriz, resultando em boa sensibilidade com baixos limites de detecção (Santos, 1999).

A ICP-AES tem sido utilizada na análise da decomposição do substrato através do processo de compostagem e características químicas de AH extraídas do composto (da Paixão, 2003), no estudo da distribuição de metais e constantes de troca entre espécies metálicas e frações húmicas aquáticas (Araújo *et al.*, 2002) e no estudo da relação entre características químicas, bioquímicas e espectroscópicas de SH e a mineralogia das argilas (Laird *et al.*, 2001).

2.14 – CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

Com a crescente sofisticação das técnicas instrumentais de análise química, impulsionada pela “invasão” de microprocessadores e microcomputadores no laboratório, técnicas de tratamentos de dados mais complexas do ponto de vista matemático e estatístico tornaram-se necessárias (de Sena *et al.*, 2000).

A análise de dados é uma parte essencial em todo experimento, sendo univariada quando somente uma variável é medida sistematicamente para várias amostras. Há muito tempo a estatística univariada vem sendo aplicada a problemas químicos, mas a sua utilização tornou-se limitada. Nas últimas décadas, a análise multivariada foi introduzida no tratamento de dados químicos, ganhando rapidamente popularidade e dando origem a uma nova disciplina, “batizada” de Quimiometria. O modelo estatístico dos métodos multivariados considera a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade muito maior de informação.

A Calibração Multivariada tem como princípio básico a utilização simultânea de muitas variáveis x_1, x_2, \dots, x_n (como valores de absorbância a vários comprimentos de onda), para quantificar alguma outra variável de interesse y (como concentração).

O PLS (“Partial Least Squares”), ou Mínimos Quadrados Parciais, é o método mais usado em calibração multivariada e usa a informação de y no cálculo das chamadas variáveis latentes (equivalentes às Componentes Principais). As matrizes X e Y são decompostas simultaneamente em uma soma de “ h ” variáveis latentes, como nas equações a seguir:

$$X = TP' + E = S thp'h + E \quad (1)$$

$$Y = UQ' + F = S uhq'h + F \quad (2)$$

T e U são as matrizes de “scores” das matrizes X e Y , respectivamente; P e Q são as matrizes de “loadings” das matrizes X e Y , respectivamente; e E e F são os resíduos. A correlação entre os dois blocos X e Y é simplesmente uma relação linear obtida pelo coeficiente de regressão linear, tal como descrito abaixo:

$$uh = bh \quad th \quad (3)$$

para “h” variáveis latentes, sendo que os valores de b_h são agrupados na matriz diagonal B , que contém os coeficientes de regressão entre a matriz de “scores” U de Y e a matriz de “scores” T de X . A melhor relação linear possível entre os “scores” desses dois blocos é obtida através de pequenas rotações das variáveis latentes dos blocos de X e Y .

A matriz Y pode ser calculada de u_h ,

$$Y = TBQ' + F \quad (4)$$

e a concentração de novas amostras prevista a partir dos novos “scores”, T^* , substituídos na equação (4)

$$Y = T^*BQ' \quad (5)$$

Nesse processo é necessário achar o melhor número de variáveis latentes, o que normalmente é feito por um procedimento chamado validação cruzada (“cross validation”), no qual o erro mínimo de previsão é determinado. Existe ainda a diferenciação entre PLS1, em que a regressão é feita para uma variável dependente de cada vez (a matriz Y é um vetor coluna), e PLS2, onde todas são calculadas simultaneamente.

Um caso típico diz respeito à correlação existente entre espectros de Infra Vermelho por Reflectância Difusa com Transformada de Fourier (IVRDFTF), que apresenta 1800 variáveis em cada espectro, Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), que apresenta 2048 variáveis em cada espectro e os teores de C, H e N de cada amostra. Se for considerado que se trabalha com um número grande de amostras (cerca de 30), pode-se imaginar o número grande de correlações que isto significa. Para isto os métodos da Quimiometria são muito úteis.

Muitos trabalhos procuram aplicar esse tipo de estratégia para avaliar características intrínsecas à fertilidade do solo e comparar as condições de manejo. Estes

trabalhos permitem, por exemplo, classificar solos de acordo com sua fertilidade (Nolin *et al.*, 1989), comparar nutrientes de plantas e solos (Németh *et al.*, 1993) e determinar os fatores que controlam a mineralização de nitrogênio em solos úmidos (González-Prieto *et al.*, 1992), a denitrificação em solos cultivados e não cultivados (Horwath *et al.*, 1998) e a deterioração pelo uso de solos semi-áridos (Quiroga *et al.*, 1998).

Uma aplicação muito interessante na área de calibração multivariada foi a utilização do método PLS na correlação entre dados de infravermelho e EPR, e ressonância magnética nuclear de ^{13}C (Pereira, 2004). Nesse trabalho, o modelo desenvolvido foi utilizado na determinação de grupos funcionais orgânicos normalmente determinados por NMR, apresentando índices de concordância dos valores reais com os previstos, acima de 95%.

Sendo assim, este modelo pode ser utilizado na previsão de grupos funcionais em substâncias semelhantes, tendo-se apenas os espectros de DRIFT registrados nas mesmas condições.

3 – OBJETIVOS

3.1 – GERAIS

A proposta deste trabalho é de contribuir com dados para possíveis novos direcionamentos nas práticas de manejo de solos, visando melhorar a capacidade dos mesmos de seqüestrarem carbono e, também, para serem utilizados na alimentação de programas de computador com vistas ao balanço geral do ciclo do carbono no planeta.

3.2 – ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos são os de caracterizar, química, espectroscópica e quimiometricamente, as estruturas químicas de SH e de suas interações com estruturas de argilas, como caulinitas; oxi-hidróxidos metálicos, principalmente de Fe e Al; e íons metálicos, especialmente de V, Mn, Cu, Fe e Mo, em solos submetidos a dois tipos de manejo em plantação de arroz irrigado: plantio direto (sem maior revolvimento do solo) e plantio convencional, e solo de campo nativo (sem cultivo). Além disso, as amostras dos solos foram coletadas das áreas de plantio, quando inundadas e quando drenadas com a finalidade de se estudar as transformações químicas que ocorrem durante estes dois estágios da cultura.

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – AMOSTRAGEM

Foram coletadas um total de seis amostras de solo, classificado como Planossolo Hidromórfico composto por 44% de areia, 36% de silte e 19% de argila, sob dois diferentes manejos, plantio direto (PD) e plantio convencional (PC), e campo nativo (T), numa profundidade de 0-20 cm, com cultivo de arroz irrigado há pelo menos quinze anos, no campo experimental de plantio de arroz da Embrapa (CPACT)/Pelotas-RS (Figura 16).



Figura 16 - Campo experimental de plantio de arroz da Embrapa (CPACT)/Pelotas-RS

As amostras foram coletadas em cinco pontos diferentes dentro da sua área de plantio, misturadas e quarteadas. As três primeiras, referentes ao estágio sob inundação (IPC, IPD e IT), foram coletadas em abril do ano de 2003 e, as três últimas, referentes ao estágio drenado (DPC, DPD e DT), em novembro do mesmo ano. Todas foram

devidamente acondicionadas, rotuladas e transportadas até o LABPAM/DQ/UFPR para posteriores extrações e análises.

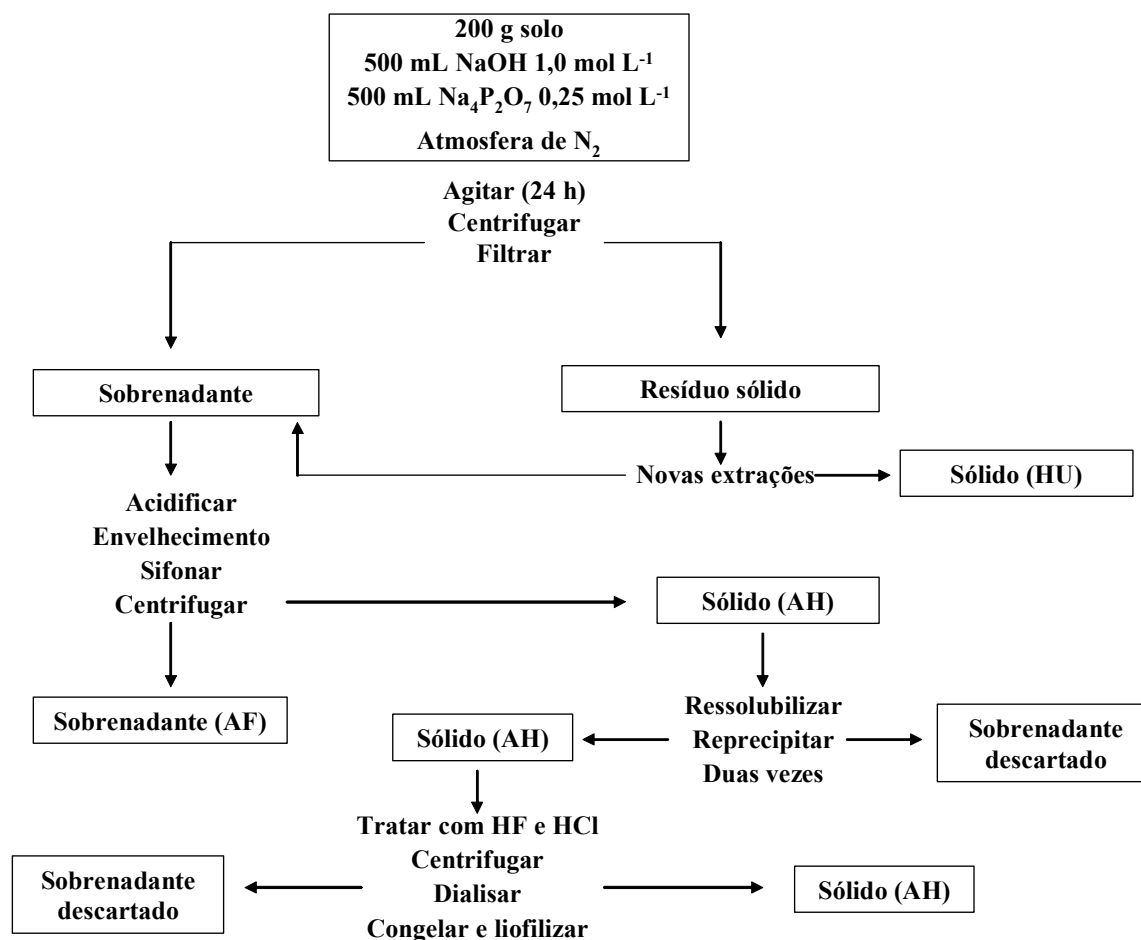
4.2 – EXTRAÇÕES DAS SH DO SOLO

As amostras foram secas ao ar, protegidas da poeira, peneiradas e extraídas segundo Cozzolino *et al.* (2001), partindo-se de 200,0 g de cada solo da seguinte maneira:

As amostras de solo foram acondicionadas em garrafa plástica e adicionados 500 mL de solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ e 500 mL de solução Na₄P₂O₇ 0,25 mol L⁻¹ (solução extratora), sob atmosfera de N₂ durante 10 minutos, fechadas e agitadas durante 24 horas. No dia seguinte, esta solução foi centrifugada por 20 minutos a 7000 rpm, gerando um resíduo sólido. O sobrenadante foi, então, filtrado com lã de vidro, recolhido em béquero com capacidade para 6 L, acidificado com HCl (conc.) até pH ~1,0 e, deixado em repouso durante 24 horas para a precipitação dos AH. Feito isso, a solução foi centrifugada por 15 minutos a 4000 rpm, de onde foram separados os AH (sólido) e AF (em solução). O resíduo sólido da primeira centrifugação foi novamente agitado com solução extratora por mais duas vezes, sob N₂, durante 1 hora. Após cada filtração o pH foi levado ~ 1,0 e ao fim da extração deixou-se precipitar até o dia seguinte. Em seguida, foram separadas as HU, que consiste em todo o resíduo sólido remanescente das extrações, lavadas com água deionizada até pH ~ 7,0. Os AF sobrenadantes foram sifonados, enquanto que o precipitado (AH) foi ressolubilizado em 6 L de água deionizada, usando pastilhas de NaOH, até pH ~ 12,0 (sob N₂) e, reprecipitados com HCl (conc.) a pH ~1,0. Este procedimento de purificação foi realizado duas vezes. Após a terceira reprecipitação, o sobrenadante foi sifonado e descartado, enquanto que o sólido (AH) foi centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm. Logo após, o sólido remanescente (AH) foi agitado em garrafa plástica, com 40 mL de HF (40 %) e 2,5 mL de HCl (conc.), completando o volume de 1 L com água deionizada, durante 48 horas. Na seqüência, esta solução foi centrifugada por

10 minutos a 4000 rpm, dialisada, em água deionizada, até teste negativo para cloretos (teste com AgNO_3), congelada e, finalmente liofilizada.

Um esquema simplificado do método de extração utilizado pode ser visto a seguir:



As soluções contendo os ácidos fúlvicos em pH ~ 2 foram recolhidas, classificadas por AFDPC, AFDPD, AFDT, AFIPC, AFIPD e AFIT e acondicionadas sob refrigeração.

Os ácidos húmicos, após liofilização, foram pesados resultando em 0,89g (0,445%) para IPC; 2,2g (1,1 %) para IPD; 2,75g (1,375 %) para IT; 0,81g (0,405 %) para DPC;

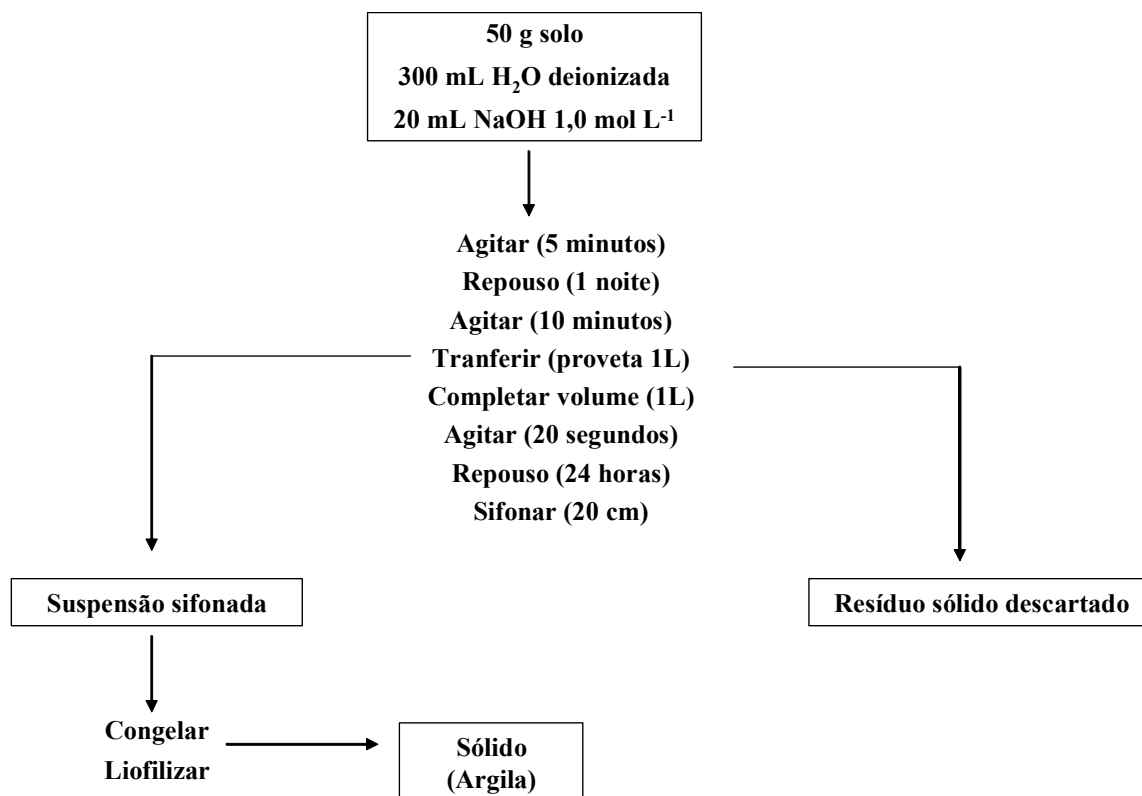
0,91g (0,455 %) para DPD e 0,96g (0,48 %) para DT, sendo designados por AHDPC, AHDPD, AHDT, AHIPC, AHIPD e AHIT.

As huminas foram lavadas com água deionizada até pH ~ 7, secas em estufa a uma temperatura de 45°C durante uma semana e designadas por HUDPC, HUDPD, HUDT, HUIPC, HUIPD e HUIT.

4.3 – SEPARAÇÃO DA FRAÇÃO ARGILA

Este procedimento foi adaptado do “método da pipeta” (Day, 1965). Foi transferida uma quantidade de 50 g de solo seco e peneirado, em peneira de 0,105 mm, para um béquer de plástico com capacidade de 1 L. Em seguida foram adicionados 300 mL de água deionizada e 20 mL de solução de NaOH 1 mol L⁻¹. A solução foi, então, agitada com agitador magnético por 5 minutos e deixada em repouso por uma noite. No dia seguinte, a solução foi agitada por mais 10 minutos e, logo após, transferida para uma proveta de plástico de 1 L de capacidade, completando o volume desta com água deionizada. A seguir, foi agitada com um bastão de extremidade achatada e furada, na vertical por aproximadamente 20 segundos e, deixada em repouso por 24 horas. Finalmente, a solução foi sifonada, a uma profundidade de 20 cm da proveta, para um recipiente plástico, congelada e liofilizada. As argilas foram designadas por DPC, DPD, DT, IPC, IPD e IT.

Um esquema simplificado do método de separação utilizado pode ser visto a seguir:



4.4 – MUDANÇAS MACROMOLECULARES NAS SH INDUZIDAS PELA INTERAÇÃO COM ÁCIDO ACÉTICO

Este ensaio foi adaptado de Piccolo *et al.*(1996) e, realizado partindo-se de 30 mL de uma solução aquosa (água mili-Q) de AH a 100 mg L⁻¹ e pH = 10,0, ajustado com solução de NaOH a 0,05 mol L⁻¹ sob atmosfera de N₂. Em seguida, três alíquotas de 10 mL foram separadas. A primeira, chamada de estoque, foi colocada em um balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com água mili-Q, de modo que a concentração final ficasse em 20 mg L⁻¹. A segunda e a terceira foram colocadas separadamente, em dois béqueres onde foram adicionados HCl concentrado até pH = 1,0, no primeiro e, ácido acético glacial até pH = 2,0, no segundo. Feito isso, o pH dos dois foi elevado a 10,0 pela adição de solução de NaOH a 0,05 mol L⁻¹, sob atmosfera de N₂ e agitação. Após esta etapa, estas misturas foram colocadas separadamente, em dois balões

volumétricos de 50 mL, completando-se o volume com água mili-Q, de modo que a concentração final também ficasse em 20 mg L^{-1} . Estas duas soluções foram chamadas de HCl e HAc, respectivamente. Finalmente, as três soluções foram colocadas em cela de quartzo multifacetada com tampa de teflon (Sigma) com 3,5 mL de capacidade e analisadas em espectrofotômetro de luminescência Hitachi modelo F-4500, nas modalidades emissão e sincronizada, como descrito mais adiante nas seções 4.5.4.1 e 4.5.4.2, respectivamente.

4.5 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

4.5.1 - ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL POR REFLECTÂNCIA DIFUSA (DR UV-VIS)

Os espectros no DR UV-VIS foram obtidos colocando-se as amostras de AH e HU, no estado sólido, em porta amostras de 26 mm de diâmetro, à temperatura ambiente, na faixa de 190-800 nm utilizando espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC equipado com acessório de esfera de integração modelo 240-52454-01. Foi utilizado como referência BaSO_4 pulverizado e seco. As razões E_4/E_6 e E_2/E_4 , foram calculadas dividindo-se as intensidades de $1/\log$ reflectância nos comprimentos de onda 465 e 665 nm, para a primeira e, 270 e 407 nm para a última.

4.5.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

4.5.2.1 – MODALIDADE POR REFLECTÂNCIA DIFUSA COM TRANSFORMADA DE FOURIER (DRIFT)

As amostras de AH e HU, previamente maceradas em gral de ágada, foram transferidas para um porta amostras e suas superfícies alisadas com lâmina de vidro. Para obter os espectros, foi utilizado espectrofotômetro de infravermelho BIORAD FTS 3500

GX modelo EXCALIBUR com acessório de reflectância difusa modelo Gemini diffuse reflectance sampling head. Duzentas e cinquenta e seis varreduras foram coletadas numa resolução de 2 cm^{-1} , na região de $7000 - 400\text{ cm}^{-1}$, usando como referência KBr pulverizado e seco.

4.5.2.2 – MODALIDADE POR TRANSMITÂNCIA

Os espectros dos AH, por transmitância, foram efetuados em equipamento BIORAD FTS 3500GX, modelo EXCALIBUR, somando-se trinta e duas varreduras com a resolução de 2 cm^{-1} , na região de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$. Preparou-se a pastilha com a amostra em KBr, a cerca de 1% m/m (99 mg de KBr para 1 mg de amostra).

4.5.3 - ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

Amostras de AH e HU, no estado sólido, foram finamente pulverizadas e colocadas em tubos de quartzo de 4 mm de diâmetro. Os espectros foram obtidos utilizando-se espectrômetro BRUKER ESP 300E usando a banda X ($\sim 9,5\text{ GHz}$) com frequência de modulação de 100 kHz, a temperatura ambiente ($\sim 300\text{ K}$) e em nitrogênio líquido (77 K).

As amostras de AH foram submetidas também, ao ensaio de variação de potência de microondas na faixa de 200-0,002 mW, a temperatura ambiente.

4.5.4 – ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Os espectros de fluorescência foram registrados em soluções aquosas (água mili-Q) de AH a 100 mg L^{-1} após uma noite para atingirem o equilíbrio da temperatura ambiente, e o ajuste do pH = 9,2 com $0,05\text{ mol L}^{-1}$ NaOH sob atmosfera de N_2 . Para os AF foram registrados diretamente nas frações dissolvidas após a extração. As amostras foram

colocadas em cela de quartzo multifacetada com tampa de teflon (Sigma) com 3,5 mL de capacidade e analisadas em espectrofotômetro de luminescência Hitachi modelo F-4500.

4.5.4.1 – MODALIDADE EMISSÃO

Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados na faixa entre 380-700 nm, sendo que o comprimento de onda de excitação foi fixado em 360 nm, com largura de fenda dos monocromadores de 5 nm, velocidade de varredura fixada em 240 nm min⁻¹ e resolução espectral de 0,2 nm. Foram subtraídos os brancos (água mili-Q) de todos os espectros.

4.5.4.2 – MODALIDADE SINCRONIZADA

Espectros de fluorescência sincronizada foram coletados de 300-700 nm utilizando intervalo de 18 nm entre os comprimentos de onda de excitação e emissão, ou seja, ($\lambda_{EM} = (\lambda_{EXC} + 18 \text{ nm})$, com largura de fenda dos monocromadores de 5 nm, velocidade de varredura fixada em 240 nm min⁻¹ e resolução espectral de 0,2 nm. Foram subtraídos os brancos (água mili-Q) de todos os espectros.

4.5.4.3 – MODALIDADE MATRIZ EXCITAÇÃO-EMIÇÃO (MEE)

Os espectros de luminescência total (LT) foram obtidos na forma de matriz excitação-emissão (MEE), ou mapas de contorno, varrendo o comprimento de onda de emissão de 400-600 nm, enquanto que o comprimento de onda de excitação foi aumentado sequencialmente de 5 em 5 nm de 300-500 nm. Todos os espectros foram obtidos com largura de fenda dos monocromadores de 5 nm. A velocidade de varredura foi fixada em 2400 nm min⁻¹. Os espectros MEE foram gerados a partir dos dados espectrais de LT pelo uso do programa SigmaPlot 2000.

4.6 - DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (XRD)

Para realizar as análises de difração de raios-X, as amostras de AH, HU e fração argila foram colocadas em porta amostras com 25 mm de diâmetro e analisadas em difratômetro Shimadzu XRD-6000 utilizando radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) com parâmetros de 40 kV e 40 mA. Os ângulos de varredura variando de 10 a 80° (2 θ) foram corridos em 35 minutos (velocidade de 2°.min⁻¹).

4.7 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FUNÇÕES ORGÂNICAS EM AH E HU USANDO O MÉTODO QUIMIOMÉTRICO PLS APLICADO A DADOS ESPECTROSCÓPICOS DE DRIFT

Um modelo de calibração foi construído aplicando a regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS). Os dados foram analisados pelo PLS após serem centrados na média e corrigidos quanto ao espalhamento multiplicativo, excluindo a região do CO₂ e alisados (15 pontos) através de filtros de alisamento Savitzky–Golay (SG). Os programas utilizados para o pré tratamento dos dados bem como para os cálculos do PLS foram o PLS toolbox, versão 3.0 (Eigenvector Research, Manson) para uso com Matlab (Mathworks, Versão 6.5). Os dados da espectroscopia DRIFT na região de 7000 – 400 cm⁻¹ e as áreas dos picos de ¹³C CPMAS NMR de três amostras HA e duas de FA foram usadas para compor o conjunto da amostras de calibração (Pereira, 2004). O número de variáveis latentes utilizado foi dois. Os modelos de calibração foram validados usando um conjunto de seis espectros calibrados. O algoritmo PLS foi aplicado nos espectros de calibração 6 – 1 (seis menos um) e, com esta calibração, a variável quantitativa da amostra (concentração), excluída durante a calibração, foi prevista. Este procedimento foi repetido seis vezes até cada amostra ter sido excluída uma vez. O valor previsto para cada amostra foi então, comparado com o valor conhecido da amostra de referência determinado previamente por ¹³C CPMAS NMR (Pereira, 2004).

4.8 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR (C,H,N,O) E TEOR DE CINZAS

As amostras de AH foram encaminhadas à Central Analítica da Universidade de São Paulo (SP) e analisadas por um analisador elementar Perkin Elmer-CHN 2400.

Para a determinação de cinzas, as amostras de AH (40 mg) foram calcinadas por aproximadamente 4 horas a 700 °C em cadinho de porcelana pré seco e pesado.

4.9 – ANÁLISE DE METAIS (Al, Cu, Fe, Mn) POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ACOPLAMENTO INDUZIDO (ICP-AES)

O conteúdo de metais foi obtido através da digestão de aproximadamente 0,5 g de amostra de AH e HU secos a 60°C, moído em gral e peneirados. À amostra pesada em béquer de 250 mL adicionou-se 10 mL HNO₃ 1:1 (v/v), em seguida aqueceu-se a ~ 200 °C por cerca de 15 minutos. Após resfriamento até a temperatura ambiente, foram adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado e aqueceu-se por 40 minutos. Novamente esperou-se alcançar a temperatura ambiente para a adição de 5 mL de H₂O₂ (30 %) e aqueceu-se até a redução de volume (± 5 mL). Após esfriar (temperatura ambiente), filtrou-se a amostra para um balão volumétrico de 100 mL utilizando-se papel de filtro faixa branca, lavando-se cerca de 4 vezes o béquer com água mili-Q e completou-se o volume do balão. As amostras digeridas (HU e AH) foram analisadas, uma única vez, por um espectrômetro de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES) Varian Vista Pro 2000, no TECPAR – Curitiba (PR).

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL POR REFLECTÂNCIA DIFUSA (DR UV-VIS)

As Figuras 17 e 18 mostram os espectros no DR UV-VIS dos AH e HU, respectivamente, obtidos no estado sólido por reflectância difusa.

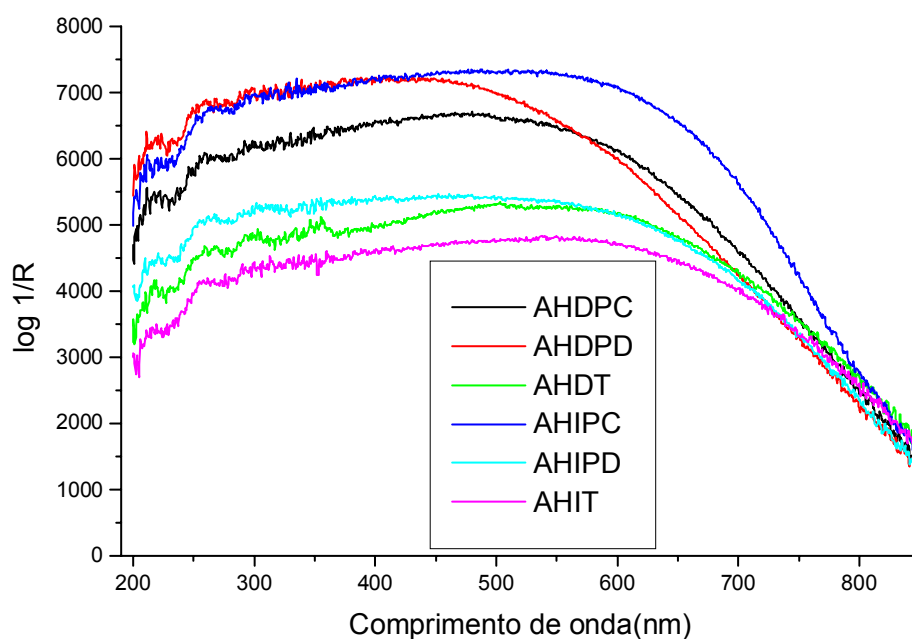


Figura 17 - Espectros UV-VIS, no estado sólido, dos AH obtidos por reflectância difusa.

A partir desses espectros foram calculadas as razões E_4/E_6 e E_2/E_4 , para as amostras e os resultados apresentam-se na Tabela 2.

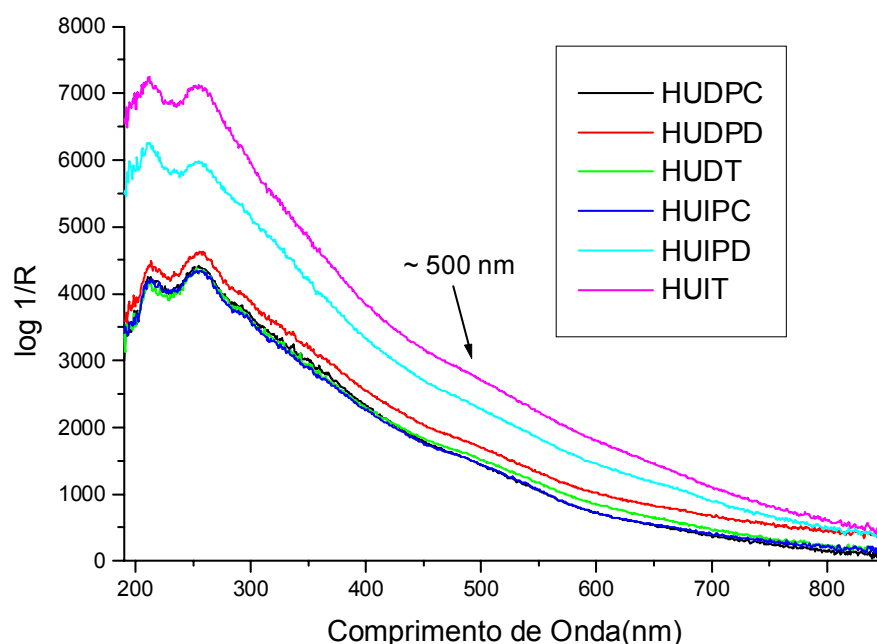


Figura 18 - Espectros UV-VIS, no estado sólido, das HU obtidos por reflectância difusa.

Através dos valores da Tabela 2 nota-se que a razão E_4/E_6 das amostras de AH apresentaram uma variação no período drenado e inundado de maneira semelhante, ou seja, $PD > PC > T$. Isto significa que as estruturas compostas por anéis aromáticos mais condensados estão presentes nas amostras de campo nativo (sem cultivo). Já para os dois tipos de manejo, vê-se que o plantio convencional apresenta o valor dessa razão menor que o plantio direto. Este resultado pode estar relacionado com a incorporação de resíduos da safra anterior (palha), característico para o plantio direto, resultando na formação dos chamados AH “jovens” (Xing e Chen, 1999). Outra constatação importante é que as amostras (AH) do período inundado (condições anóxicas) apresentaram valores menores para razão E_4/E_6 em relação ao período drenado (condições aeradas) favorecendo assim, condições para a formação de estruturas aromáticas mais condensadas na matéria orgânica do solo (Senesi e Loffredo, 1999). Isto ocorre devido à possível oxidação dos

anéis aromáticos, diminuindo a policondensação de anéis benzênicos e aumentando a razão E_4/E_6 nas amostras do período drenado, como representado na reação abaixo:

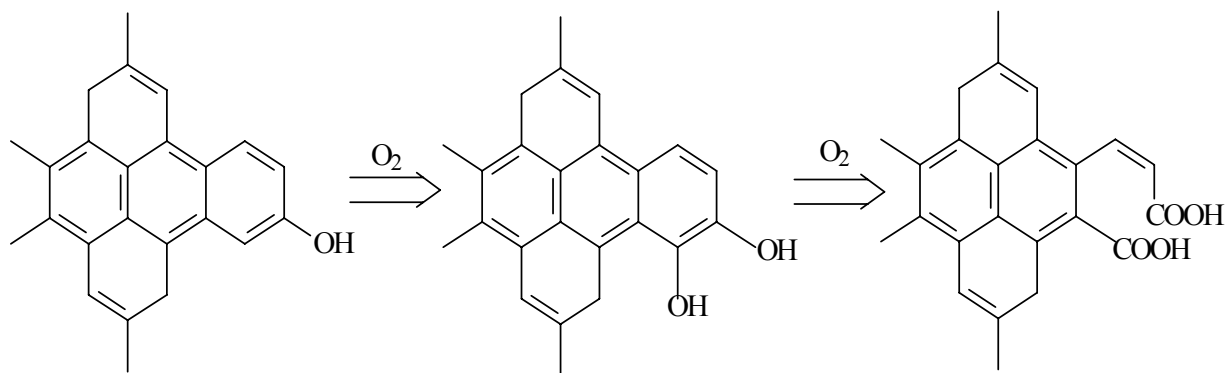


Tabela 2 - Razões E_4/E_6 e E_2/E_4 para as amostras de AH e HU.

AMOSTRAS	RAZÃO	
	E_4/E_6	E_2/E_4
AHDPC	1,27	0,92
AHDPD	1,47	0,94
AHDT	1,11	0,94
AHIPC	1,15	0,93
AHIPD	1,19	0,94
AHIT	1,08	0,89
HUDPC	3,52	1,77
HUDPD	2,47	1,69
HUDT	2,93	1,76
HUIPC	3,31	1,83
HUIPD	2,32	1,88
HUIT	2,23	1,91

Pôde-se ver também que os valores da razão E_4/E_6 dos AH, obtidos no estado sólido (entre 1,08 e 1,47), são bem menores do que àqueles obtidos através de amostras analisadas no estado líquido (entre 4,0 e 4,5) para solos utilizados na agricultura e florestas (Fooker e Liebezeit, 2000).

Os espectros dos AH e HU diferem quanto à forma e os valores das duas razões são maiores para HU. Esta diferença pode estar relacionada com uma mais alta contribuição das reflexões da matriz argilomineral e complexos de íons metálicos, na última (Olendzki *et al.*, 2006a). Mesmo assim, os resultados obtidos (HU) foram interpretados de forma semelhante aos AH.

As razões E_4/E_6 das amostras de HU tiveram variação no período inundado de maneira semelhante, ou seja, $PC > PD > T$. Durante o período drenado a amostra referente ao campo nativo apresentou valor intermediário entre os plantios convencional e direto. Considerando-se os dois tipos de manejo, vê-se que o plantio direto apresenta o valor dessa razão menor que o plantio convencional, podendo-se dizer que ele consegue manter as estruturas orgânicas mais humificadas nessa fração (HU).

De um modo geral, as HU do período inundado (condições anóxicas) também apresentaram valores menores para razão E_4/E_6 em relação ao período drenado (condições aeradas) favorecendo assim, condições para humificação mais efetiva da matéria orgânica do solo (Senesi e Loffredo, 1999). Nota-se ainda, uma banda próxima a 500 nm, que pode ser atribuída à banda de transferência de carga ligante-metal (Drago, 1992; Lehnert *et al.*, 2003), neste caso, possivelmente relacionada a íons fenolato da MO para Fe^{3+} .

Com relação à razão E_2/E_4 , pode-se verificar que os valores apresentam-se baixos para todos os AH (0,89 a 0,94) e, sem grandes variações, quando comparados com àqueles obtidos através de análise em solução (3,0 a 4,0 para AH de origem terrestre e, 2,0 a 3,0 de origem aquático) (Fooker e Liebezeit, 2000). Isto sugere que os ácidos húmicos dessas amostras são preferencialmente de origem aquática, visto que são provenientes de um solo de várzea (baixos) com um grande manancial ao seu redor. Já para as HU pode-se verificar que os valores também se apresentaram sem grandes

variações e, um pouco mais altos que os AH, mesmo assim pode-se admitir que as HU dessas amostras sejam preferencialmente de origem aquática, pelas mesmas razões atribuídas aos AH.

5.2 – ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

As Figuras 19 e 20 mostram os espectros na região do infravermelho, médio e próximo, obtidos por reflectância difusa (DRIFT) para os AH e as HU, respectivamente.

Os espectros dos AH apresentaram uma baixa resolução, mostrando um arredondamento das bandas e dificultando a interpretação das mesmas. Mesmo assim, as atribuições das bandas são válidas uma vez que serão confirmadas na Figura 21 mais adiante, que mostra os respectivos espectros de FTIR por transmitância.

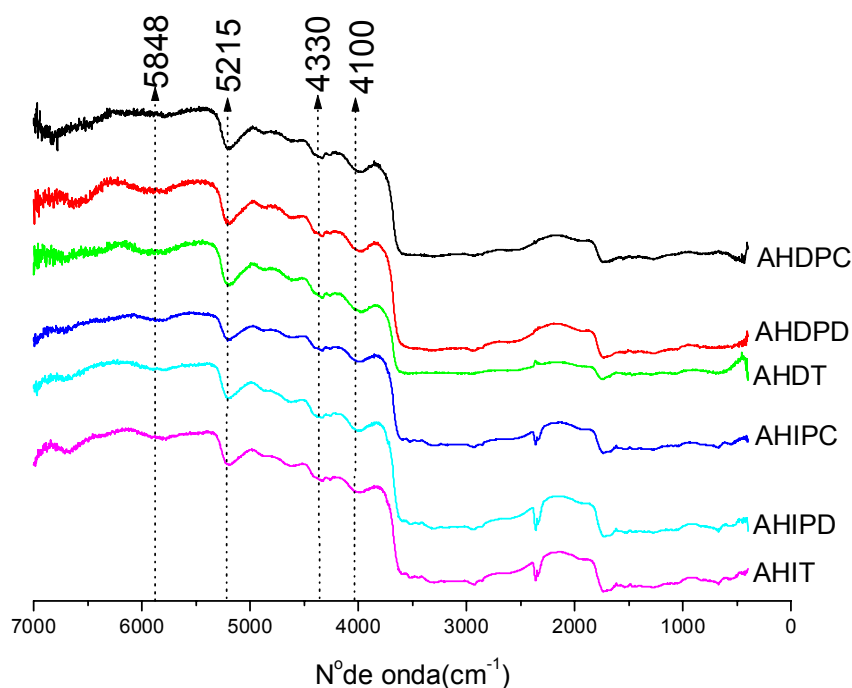


Figura 19 - Espectros no infravermelho médio e próximo obtidos por reflectância difusa dos AH. As linhas tracejadas representam as principais bandas atribuídas no IV próximo.

Embora os constituintes minerais estejam em quantidades consideravelmente reduzidas nos AH após o tratamento com solução de HF/HCl no processo de purificação, esta fração pode ainda não estar livre de minerais de argila. Isto explica a presença de uma banda larga na região de $3700-3300\text{ cm}^{-1}$ que pode estar relacionada com a vibração OH de grupos ν AlO-H (argilas e oxihidróxidos) (Wilson, 1994), ν FeO-H e ν SiO-H (argilas) e/ou ν OH (fenol, H_2O), ν NH. As vibrações de deformação de materiais inorgânicos também podem estar presentes na região de $825-750\text{ cm}^{-1}$ relacionando-se com os grupos Si-O-Al e Si-O-Fe.

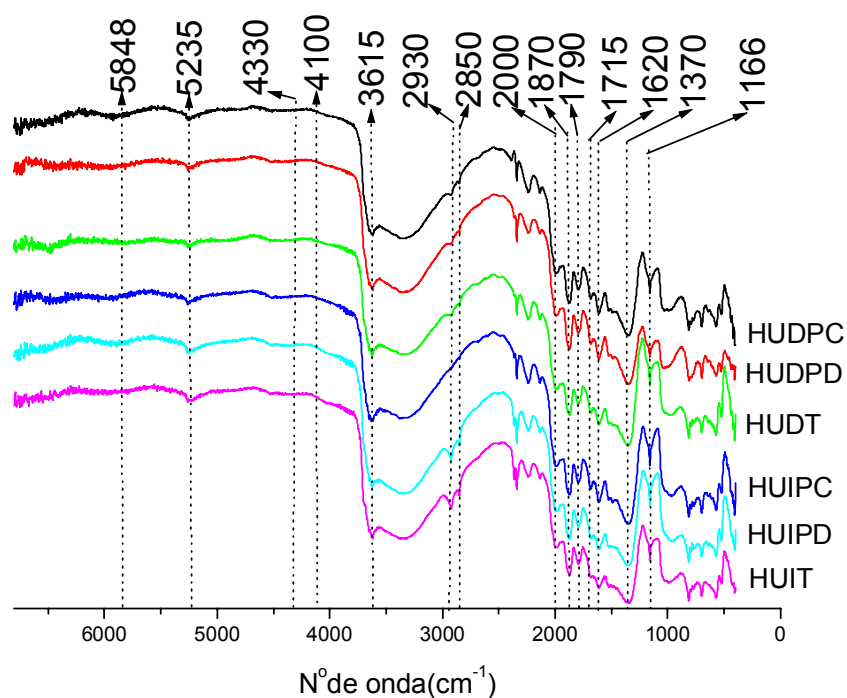


Figura 20 - Espectros no infravermelho médio e próximo obtidos por reflectância difusa das HU. As linhas tracejadas representam as principais bandas atribuídas em toda a faixa varrida.

A fração HU é principalmente dominada pela matriz mineral argilosa caracterizada por bandas em 3687 e 3624 cm^{-1} , que são relativas às vibrações de estiramento do grupo hidroxil (AlO-H) nas camadas de aluminossilicatos da argila. Três bandas características de quartzo (Si-O) podem ser vistas em 2000, 1870 e 1790 cm^{-1} , sendo geralmente mais intensas que para outros silicatos (Nguyen *et al.*, 1991).

Bandas de absorção em 1077, 1021 e 794 cm^{-1} , surgiram das vibrações Si-O no quartzo e camadas de aluminossilicatos (Farmer, 1974). Uma outra banda em 694 cm^{-1} pode ser descrita (Farmer, 1974) como uma vibração dos grupos hidroxila perpendiculares ao plano das camadas do silicato ou à vibração dos íons octaédricos, como Al, Mg ou Li. Ainda, as duas bandas em 527 e 476 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações Si-O-M, onde M = Al, Fe (Grim, 1968).

Nas duas frações (AH e HU) aparecem bandas características da matéria orgânica presente nas SH, embora nas HU aparentem baixa intensidade comparadas às fortes intensidades das bandas da matriz mineral. Na região de 2930 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} encontram-se os estiramentos assimétrico e simétrico, respectivamente, de CH alifáticos (Celi *et al.*, 1997). As bandas entre 1720-1700 cm^{-1} são atribuídas a vibrações ν (O-C=O) de ésteres ou ν (C=O) de cetonas (Naidja *et al.*, 2002), enquanto que entre 1640-1620 cm^{-1} tem-se o ν (C=O) de grupo amida – banda de amida I –, C=C de anel aromático, deformação axial de C=C, C=N, absorção anti-simétrica de C=O de COO^- e deformação angular de H_2O (Niemeyer *et al.*, 1992; Baes e Bloom, 1989; Guimarães, 1997). Bandas em 1510 cm^{-1} , atribuída a C=C de anéis aromáticos; em 1384 cm^{-1} ao ν (C=O) de COO^- e 1270-1260 cm^{-1} relacionada com o ν (C-OH) também podem ser observadas. Ainda, absorções entre 1200-1000 cm^{-1} podem ser atribuídas ao ν (C-O) de polissacarídeos (Stevenson, 1971 e 1994; Niemeyer, 1992), provavelmente celulose ou hemicelulose residual (Inbar *et al.*, 1989), ou impurezas de silicatos relacionadas com o ν (Si-O) (Guimarães, 1997). A banda em 1166 cm^{-1} foi atribuída à ligação C-C em alifáticos e substâncias poliméricas (Tan, 1982) ou ao grupo Si-O-C (Colthup *et al.*, 1990) que pode

indicar alguma ligação de macromoléculas húmicas ao grupo Si-O do aluminossilicato do solo, principalmente nas HU.

Pode-se obter, ainda, informações da região do infravermelho próximo entre 6000-4000 cm^{-1} . Nela vê-se bandas em 4100 cm^{-1} , atribuída ao segundo sobreton (3v) de deformação de grupos CH_3 ; 4330 cm^{-1} , devida ao segundo sobreton (3v) de deformação de CH de alifáticos e estiramento de anel aromático; 4608 cm^{-1} , relacionada com o segundo sobreton (3v) de estiramento de C=C de anel aromático; entre 5263-5181 cm^{-1} , atribuída a bandas de combinação estiramentos e deformação de grupos OH e, segundo sobreton (3v) de grupos C=O de grupos carboxílicos, cetonas e amidas primárias e 5848 cm^{-1} , devida ao primeiro sobreton (2v) de estiramento de C-H de alifáticos (Miller, 1991; Sudduth e Hummel, 1993; Ben-dor *et al.*, 1997).

A Tabela 3 mostra as principais bandas encontradas nos espectros de infravermelho e suas respectivas atribuições.

Tabela 3 - Atribuições das principais bandas de infravermelho encontradas em AH e HU.

Número de Onda (cm^{-1})	Atribuições
5848	2v de C-H de alifáticos
5263-5181	Combinação v e δ O-H ou 3v C=O (carboxílicos, cetonas e amidas primárias)
4608	3v de C=C (anel aromático)
4330	3v deformação C-H (alifáticos)
4100	3v deformação de CH_3
3700	v OH (caulinita)
3700-3600	v AlO-H, v FeO-H e SiO-H (argilas)
3400-3300	v AlO-H, v FeO-H (argilas) e/ou v OH (fenol, H_2O), vNH

Continuação da Tabela 3

3100-3070	v CH (aromáticos, olefinas)
2930-2850	v CH (CH ₂ e CH ₃ de alifáticos)
2500	2v vibração C=O (COOH)
2000	2v vibração C-O (carboidratos)
2000-1790	(Si-O) Quartzo
1735-1700	v C=O (ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos), v C=C (aromáticos)
1660-1610	v C=O (COO ⁻ , amida I), δ OH (H ₂ O), v C=C (anel aromático ou de alifático insaturado), v C=N
1600-1500	v C=C (anel aromático), amida II, δ CH (CH ₃)
1400-1300	δ CH (CH ₃), v C=O (COO ⁻)
1260	v C=O (COOH), v C-OH (aromático)
1200-1000	C-C alifático, v C-O de carboidrato, álcoois e ésteres, Si-O-C de substâncias poliméricas, Si-O (matéria inorgânica)
1040-1020	Si-O e Al-O
938 e 912	Al-OH (caulinita)
800-750	Si-O-Al, Si-O-Fe
640 e 527	Si-O-Al
476	Si-O-Fe

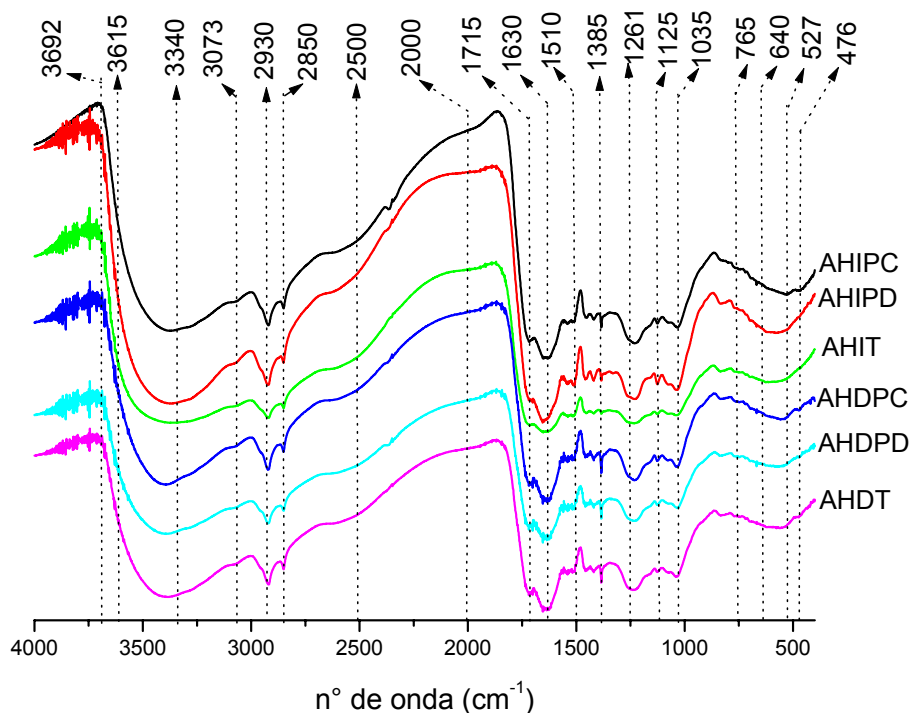


Figura 21 - Espectros de FTIR na modalidade transmitância dos AH na faixa de 4000-400 cm^{-1} . As linhas tracejadas assinalam as principais bandas atribuídas.

As Figuras 22 e 23 mostram as razões da soma das alturas de picos para carbonos aromáticos (3050, 1610 e 1530 cm^{-1}) com a soma das alturas de picos para carbonos alifáticos (2930, 2850, 1450, 1150 e 1074 cm^{-1}) para AH e HU, respectivamente.

Os valores das razões aromáticos/alifáticos para os AH variaram entre 0,55 e 0,60, sendo um pouco mais altos nas amostras do período inundado, enquanto que para as HU variaram entre 0,37 e 0,47, sendo um pouco superiores no período drenado. Essa variação sugere que a fração HU apresenta um grau de aromaticidade menor que os AH (Kang *et al.*, 2003).

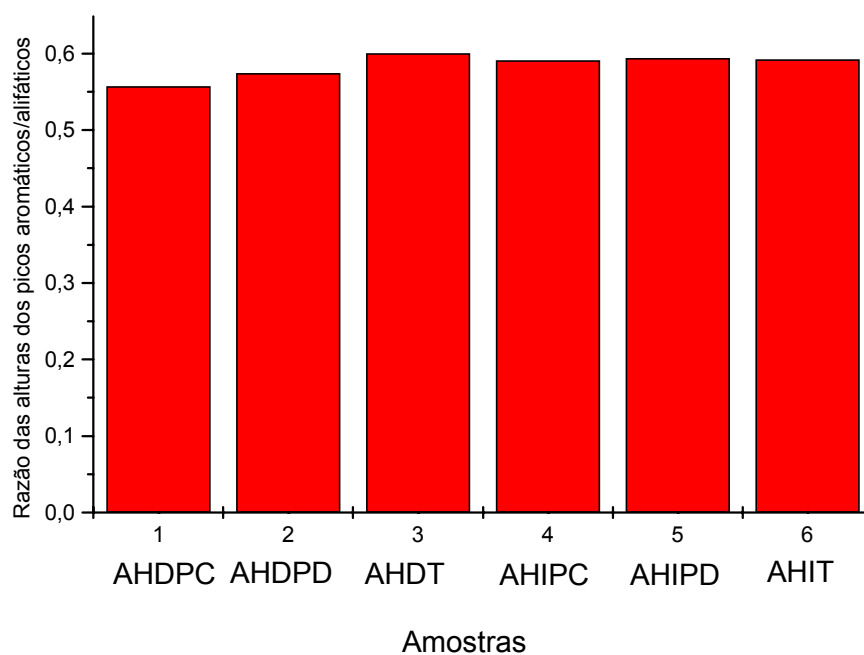


Figura 22 - Razão da soma das alturas dos picos para carbonos aromáticos e alifáticos observados nos espectros de DRIFT dos AH.

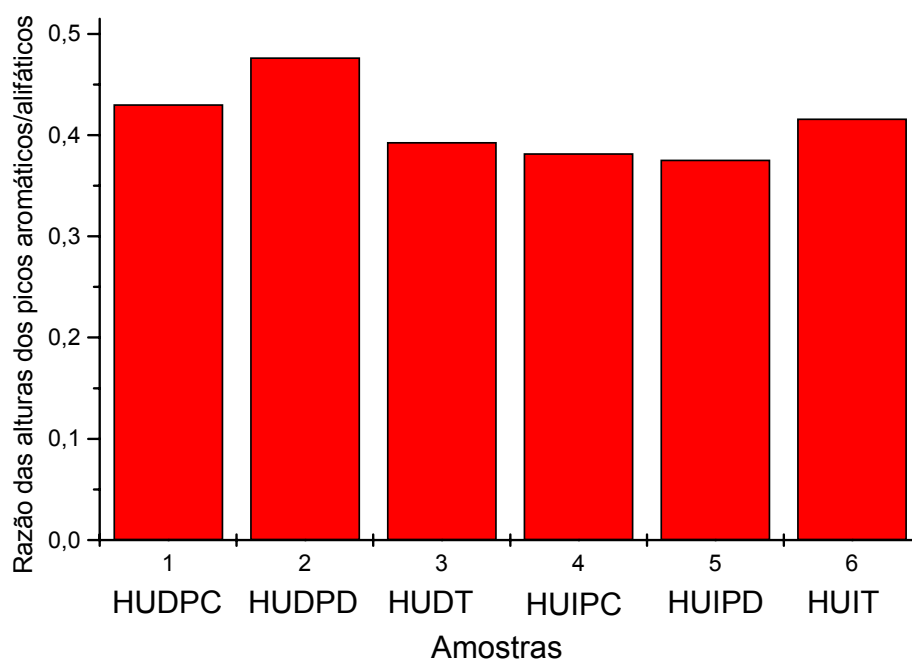


Figura 23 - Razão da soma das alturas dos picos para carbonos aromáticos e alifáticos observados nos espectros de DRIFT das HU.

Nota-se que as amostras de AH do período drenado têm uma leve diferença no valor dessa razão, variando da seguinte maneira: $AHDPC < AHDPD < AHDT$, sendo esse um indicativo de decréscimo de aromaticidade nas amostras de solo onde há plantação. Entre as amostras referentes aos dois tipos de plantio vê-se que o plantio direto, onde não há um maior revolvimento do solo, apresenta grau de aromaticidade um pouco superior que o plantio convencional. Traçando-se um comparativo desses dados com a razão E_4/E_6 (seção 5.1), a amostra sob plantio direto (drenado) apresentaria estruturas mais aromáticas, porém menos condensadas (maior razão E_4/E_6) que a sob plantio convencional, o que reforça a teoria da presença de ácidos húmicos mais “jovens” na primeira. Com relação ao período inundado, as amostras não apresentaram diferenças significativas no grau de aromaticidade, por esta técnica (Figura 22).

As amostras de HU relativas ao período inundado revelaram um maior grau de aromaticidade no campo nativo (sem cultivo), não havendo variação significativa nas amostras para os dois tipos de manejo. Por outro lado, as referentes ao período drenado mostram que o plantio direto favorece uma maior aromatização da matéria orgânica que está mais fortemente ligada à matéria inorgânica.

5.3 – ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

As moléculas da matéria orgânica do solo formam estruturas amorfas, diferentemente dos minerais. Por isso, os espectros de EPR das HU podem trazer informações tanto da matéria orgânica quanto dos minerais. Enquanto que nos espectros de minerais se observam linhas de íons Fe^{3+} em diferentes simetrias dadas a substituições isomórficas deste dentro da organização cristalina dos minerais ($g = 4,5$), nos espectros de matéria orgânica humificada observa-se apenas as linhas do centro de ferro, com $g = 4,3$, nos domínios diluídos. A Figura 24 apresenta os espectros de EPR em campo magnético de 5000 G e a 77 K das HU.

Todas as amostras mostram uma linha de ressonância intensa e larga (> 1000 G) centrada em $g = 2,0$ (3500 G) com amplitude variada, que pode estar relacionada com óxidos e oxi-hidróxidos de ferro (III) isolados ou associados na parte interna ou superficial de argilas (Muller e Calas, 1993), conforme propõe a Figura 25 (da Silva, 2001). As amostras exibem também um sinal de seis linhas centrado em $g = 2,0$ (Figura 26) atribuído a estrutura hiperfina ($A \sim 90$ G) de íons Mn^{2+} ($S = 5/2$) associados com matéria orgânica formando complexos de esfera externa (Allard *et al.*, 2002), conforme Figura 27 (Adriano, 1992).

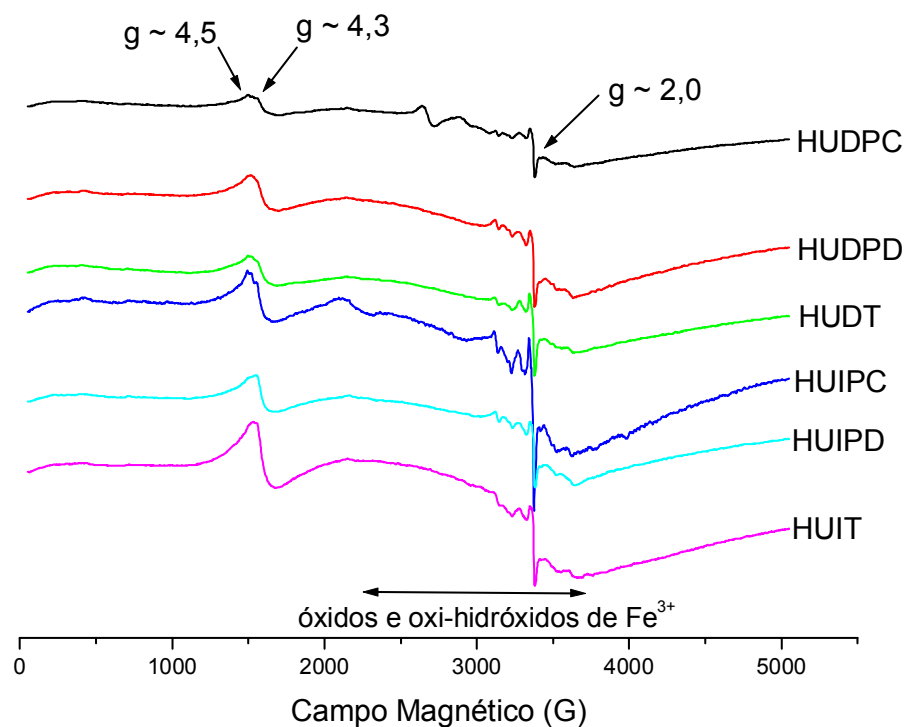


Figura 24 - Espectros de EPR das huminas em 5000 G a 77 K.

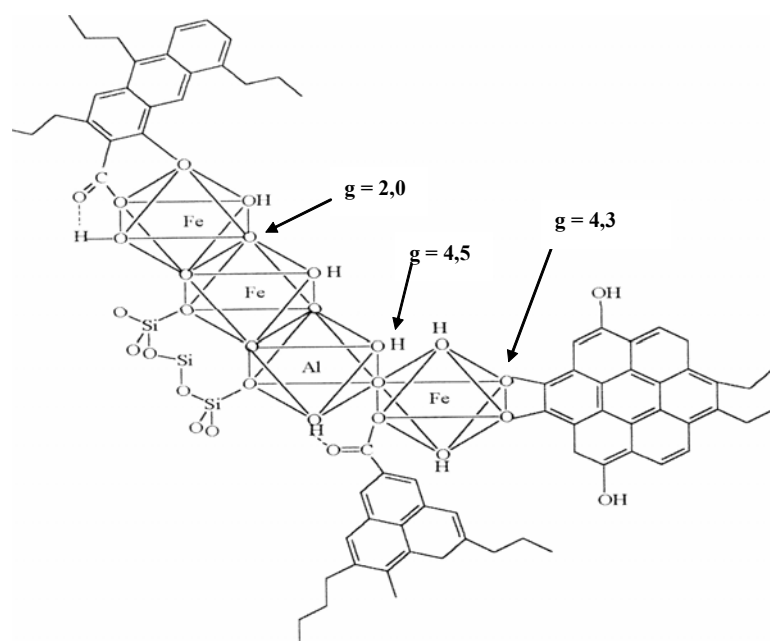


Figura 25 - Estrutura adaptada da proposta por da Silva (2001) para a interação orgânica-inorgânica no solo.

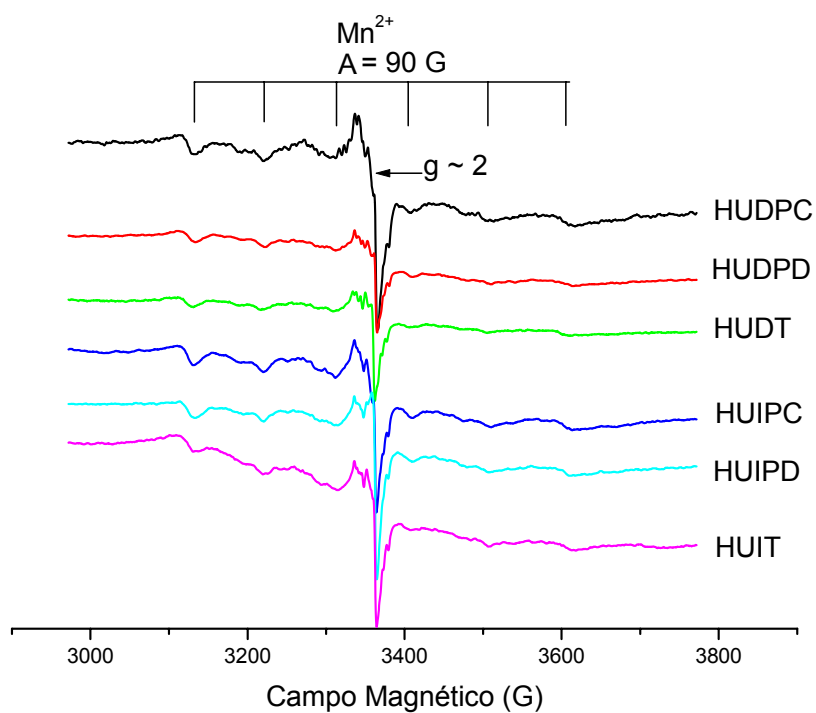


Figura 26 – Espectros de EPR das HU registrados em 800 G a 77 K.

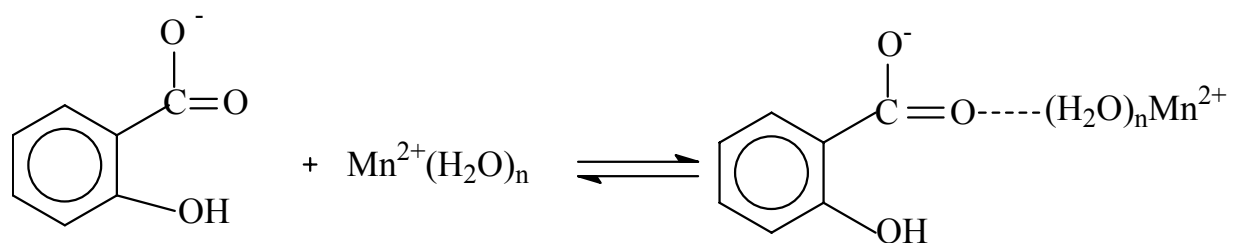


Figura 27 - Representação de um complexo de esfera externa (Adriano, 1992).

Nos espectros de EPR em 5000 G e a 77 K, mostrados nas Figuras 28 e 29, foram observadas linhas de ressonância paramagnética eletrônica para os AH.

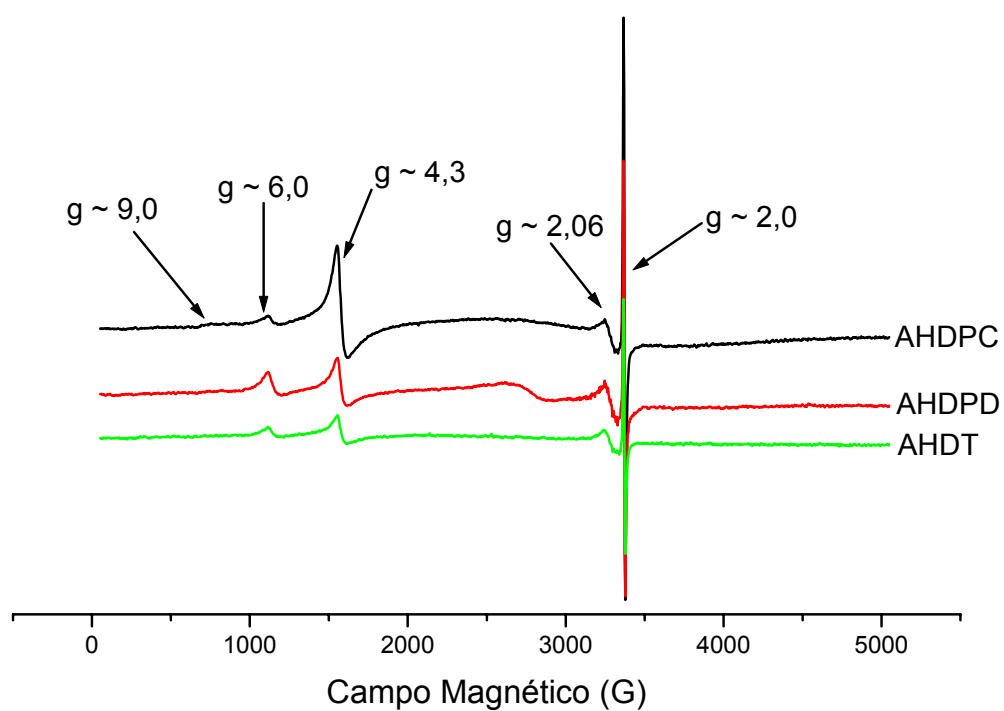


Figura 28 - Espectros de EPR dos AH referentes às amostras do período drenado em 5000 G a 77 K.

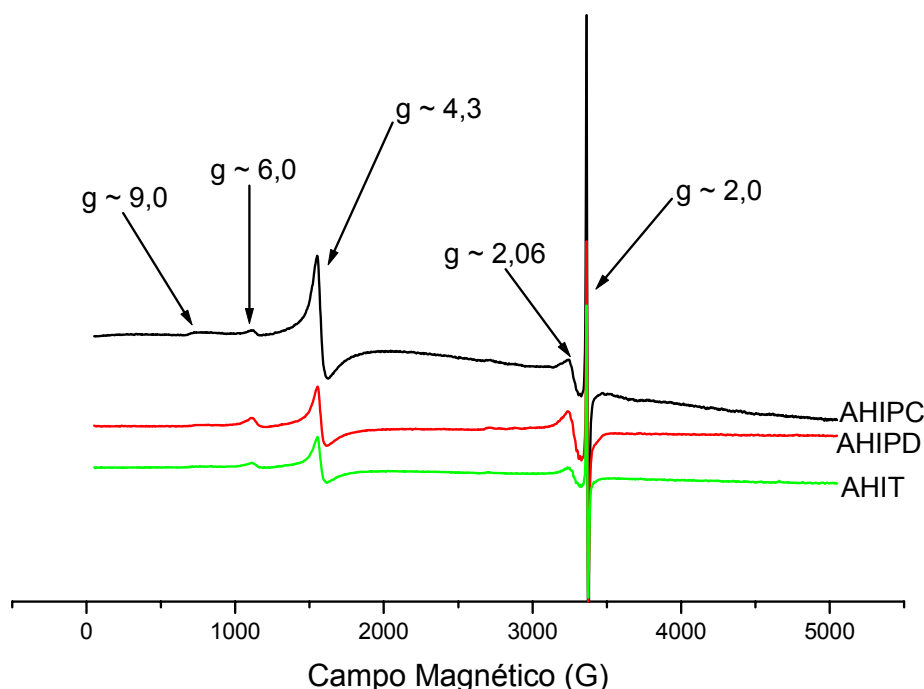


Figura 29 - Espectros de EPR dos AH referentes às amostras do período inundado em 5000 G a 77 K.

Os valores de $g = 9,0$, $6,0$ e $4,3$ foram atribuídos a linhas de ressonância do íon Fe^{3+} com $S = 5/2$, em domínios diluídos e com simetrias menores que a cúbica (tetraédrica e/ou octaédrica) e rômica (Lombardi *et al.*, 2002). Os sinais observados em $g = 6$ foram atribuídos ao espectro perpendicular de complexos de Fe^{3+} em simetria octaédrica com distorção tetragonal, formando estruturas do tipo Fe^{3+} -porfirina (Mangrich *et al.*, 1998). Os sinais encontrados em $g = 9,0$ e $4,3$ são típicos de íons Fe^{3+} em alto spin em simetria rômica distorcida ligados a grupos carboxílicos ou fenólicos da matéria orgânica em complexos de esfera interna (Allard *et al.*, 2004). Aparece em todos também, um sinal em $g \sim 2,06$, que está relacionado com o espectro perpendicular de complexos de Cu^{2+} em simetria axial. Ainda pode ser vista uma linha intensa e característica de radical livre orgânico de semiquinonas com $g \sim 2,0$ (ver valor mais exato na Tabela 4) em todas

as amostras. As Figuras 30 e 31 mostram os espectros de EPR dos AH em 2000 G a 77 K e, sua parte central em detalhe, respectivamente.

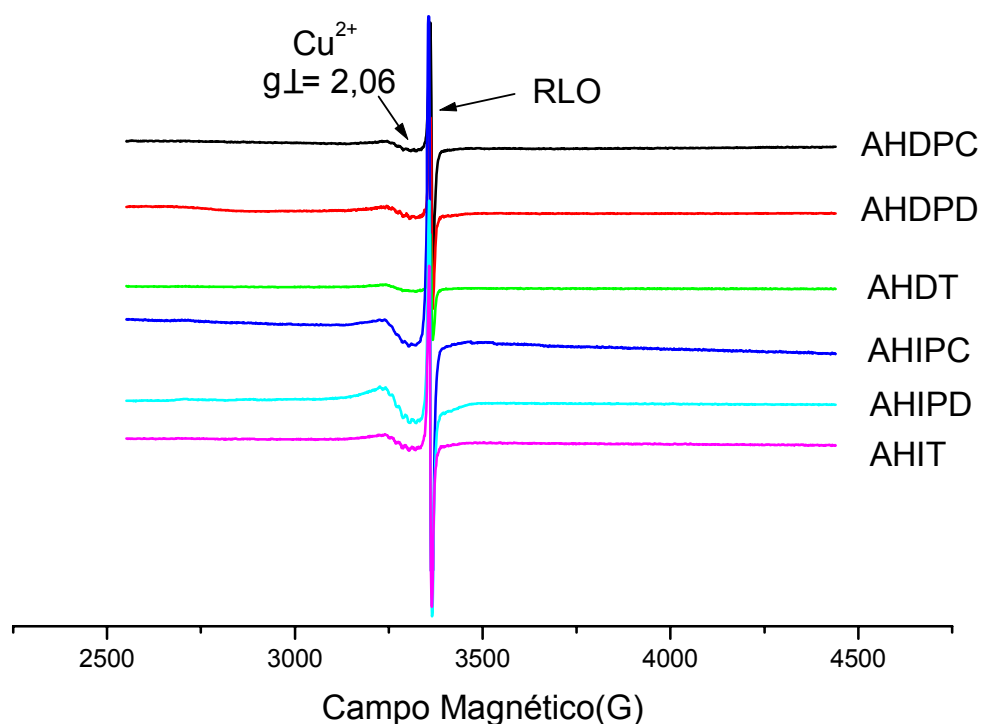


Figura 30 - Espectros de EPR dos AH analisados em 2000 G a 77 K.

No detalhe pode ser visto, em todas as amostras, um multiplete formado por 9 linhas, resultante da interação super hiperfina (A_N) do íon Cu^{2+} com 4 átomos de nitrogênio no mesmo ambiente químico, típico de estruturas Cu^{2+} -porfirina ($A_N = 17$ G) (Senesi, 1990a).

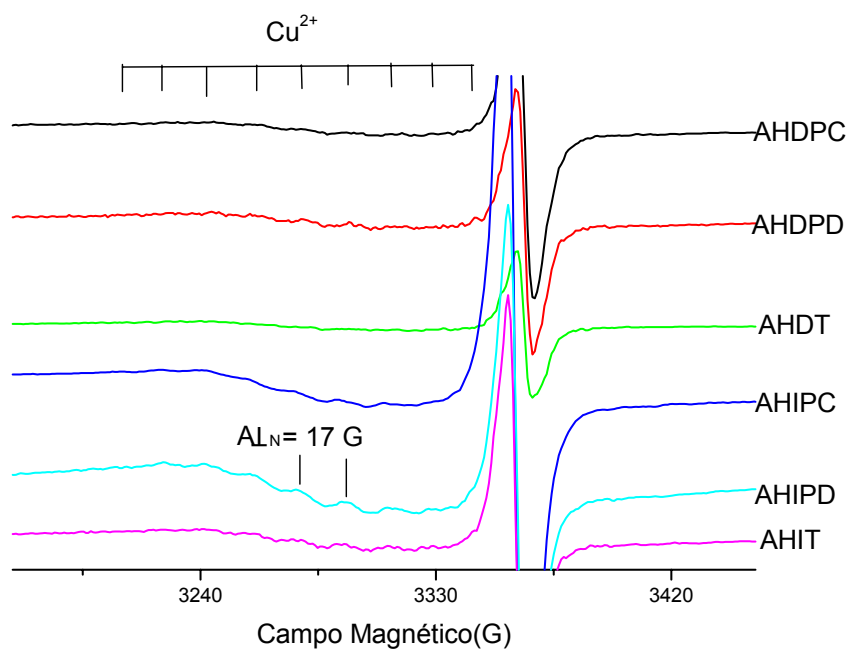


Figura 31 – Parte central, em detalhe, dos espectros de EPR dos AH analisados a 77 K.

A Figura 32 mostra uma estrutura de complexo do tipo metal-porfirina (Garay, 2004).

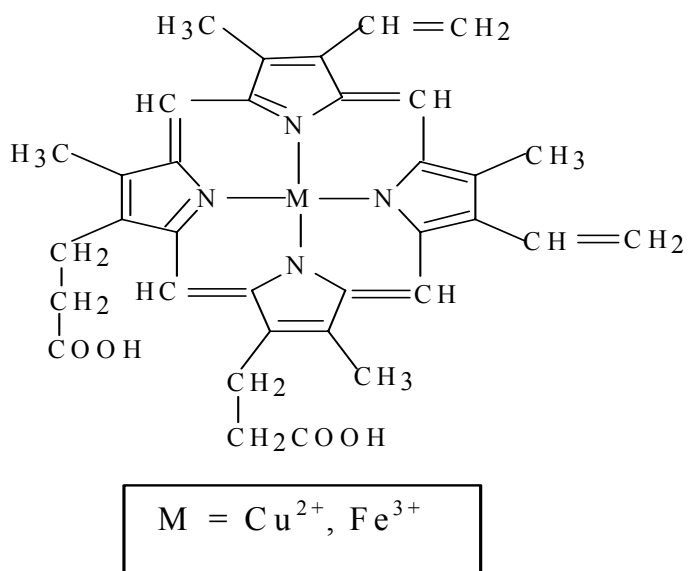


Figura 32 - Estrutura de uma porfirina metálica (Garay, 2004).

A Figura 33 representa os espectros de EPR dos AH analisados em 50 G a temperatura ambiente (~ 300 K), região atribuída aos radicais livres de semi-quinonas ($g \sim 2,0$).

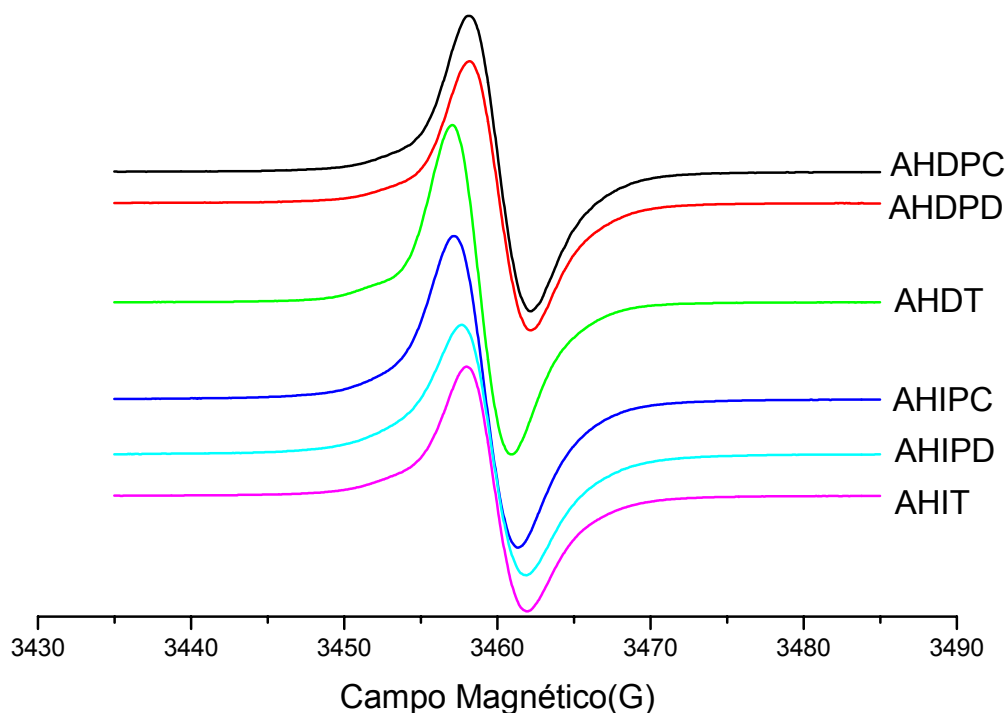


Figura 33 - Espectros de EPR dos AH analisados na região de radicais livres orgânicos ($g \sim 2,0$) a temperatura ambiente (~ 300 K).

O número de spin g^{-1} é calculado da seguinte forma:

$$S_{sp} \times n^{\circ} \text{ spin cm}^{-1}_{AH} = S_{AH} \times n^{\circ} \text{ spin cm}^{-1}_{SP}$$

$$N^{\circ} \text{ spin g}^{-1}_{AH} = n^{\circ} \text{ spin cm}^{-1}_{AH} \times h_{AH} \times m_{AH}^{-1}$$

onde S = áreas sob a linha de absorção de EPR das amostras de AH ou do padrão SP, h = altura (cm) das amostras de AH no tubo de EPR e m = massa (g) das amostras.

Utilizando-se os espectros das amostras em estudo em 50 G e o espectro, também em 50 G, de uma amostra padrão de quantidade de radical livre orgânico (RLO) determinada, “Strong Pitch” (SP) com, $3,6667 \times 10^{15}$ spins cm^{-1} , foi calculado o número de spins g^{-1} das amostras estudadas através de tratamento matemático adequado.

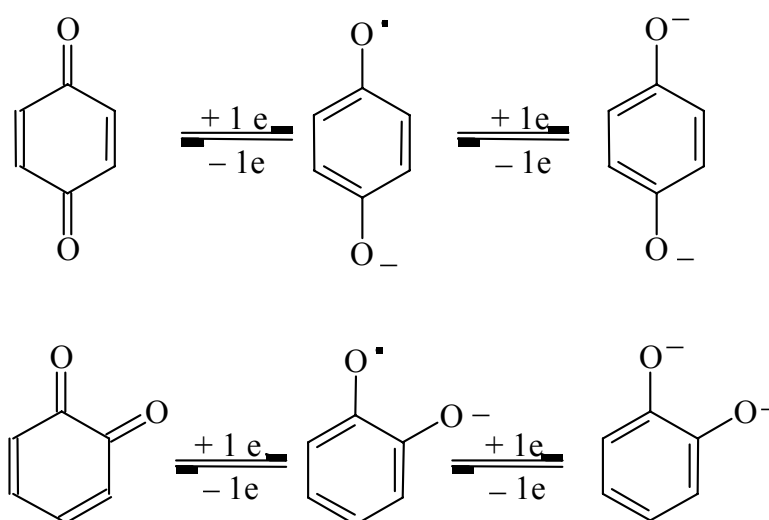
A Tabela 4 mostra o número de spin. g^{-1} e o valor do fator g para os radicais livres orgânicos do tipo semiquinona dos AH analisados.

Os teores de radicais livres geralmente encontrados para AH de solo são relativamente altos, variam de 10^{17} a 10^{18} spins g^{-1} (Senesi e Schnitzer, 1997). Para as amostras de AH estudadas foram encontrados valores um pouco mais baixos (Tabela 4). Os valores do número de spin. g^{-1} variaram entre $3,50 - 5,95 \times 10^{16}$.

Tabela 4 - Número de spin. g^{-1} e valor de g para radicais livres do tipo semiquinona dos AH

AMOSTRA	Spin. g^{-1} ($\times 10^{16}$)	g
AHDPC	4,35	2,0035
AHDPD	3,50	2,0035
AHDT	4,26	2,0035
AHIPC	5,77	2,0033
AHIPD	5,95	2,0036
AHIT	4,04	2,0037

As amostras relativas ao período inundado apresentam valores maiores do que as do período drenado, indicando que sob condições anóxicas, os anéis do tipo quinona estão sendo reduzidos a polifenóis, passando por radicais livres do tipo semiquinona, como representa o mecanismo abaixo:



Este tipo de mecanismo parece favorecer uma maior humificação da matéria orgânica do solo, estando de acordo com os valores das razões E_4/E_6 encontradas nos espectros DR UV-VIS (seção 5.1). Com relação aos dois tipos de manejo, o plantio direto contribui mais efetivamente, para a transformação da MO em estruturas mais humificadas uma vez que apresenta o número de spin.g^{-1} um pouco maior do que o plantio convencional, no período inundado. Cabe ainda ressaltar que o tipo de cultura (arroz) parece favorecer a humificação da matéria orgânica do solo, visto que os valores são maiores onde há plantação (exceto para a amostra AHDPD) do que no campo nativo.

5.3.1 – ENSAIO DE VARIAÇÃO DE POTÊNCIA

A Figura 34 mostra o ensaio de variação de potência completo para os AH analisados por EPR.

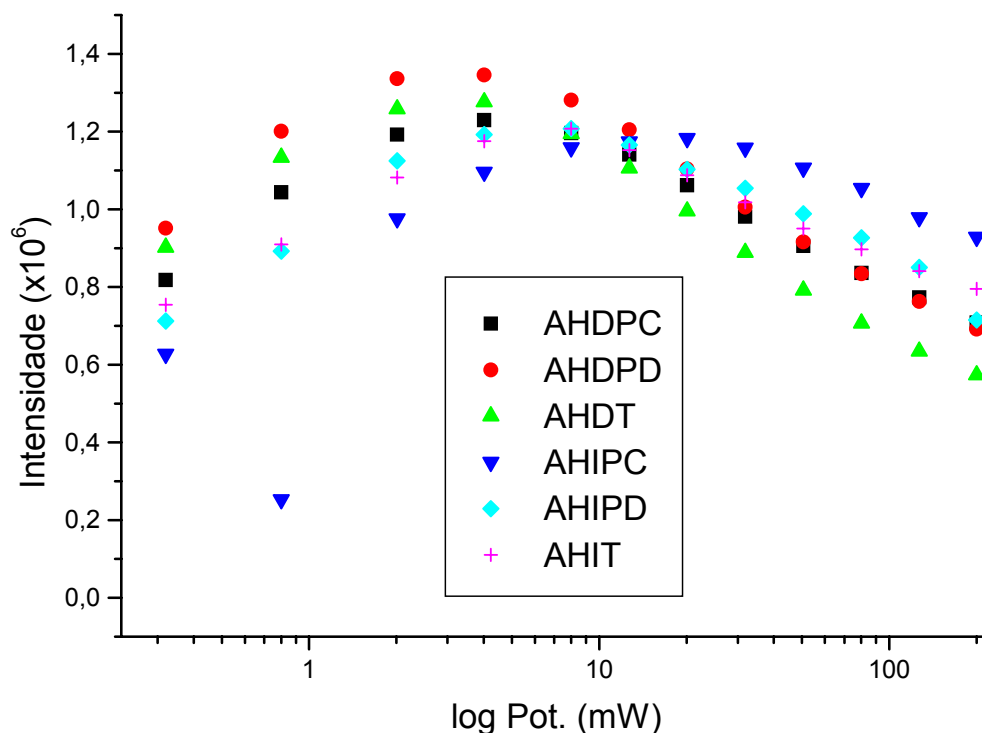


Figura 34 - Ensaio de variação de potência para os AH analisados

A intensidade do sinal é proporcional a potência a meia saturação ($P^{1/2}$) até o limite da saturação do sinal (Wertz e Bolton, 1972), como mostra a Figura 35. A saturação de potência sendo maior indica tempo de relaxação spin-rede (T_1) menor (matéria orgânica mais estruturada) e, a largura de linha, maior (Bersohn e Baird, 1966).

Os valores de potência a meia saturação e largura de linha de radicais livres dos AH (Tabela 5) não apresentaram variação significativa. Por outro lado, considerando a Figura 34, pode-se ver que as amostras do período inundado suportam mais potência de microondas antes de serem saturadas, indício de maior estruturação da matéria orgânica, concordando com os resultados de DR UV-VIS (seção 5.1). Este comportamento também pode estar sendo potencializado pela contribuição do tempo de relaxação spin-spin (T_2), uma vez que essas amostras apresentam um número maior de spins.g⁻¹ (Tabela 4).

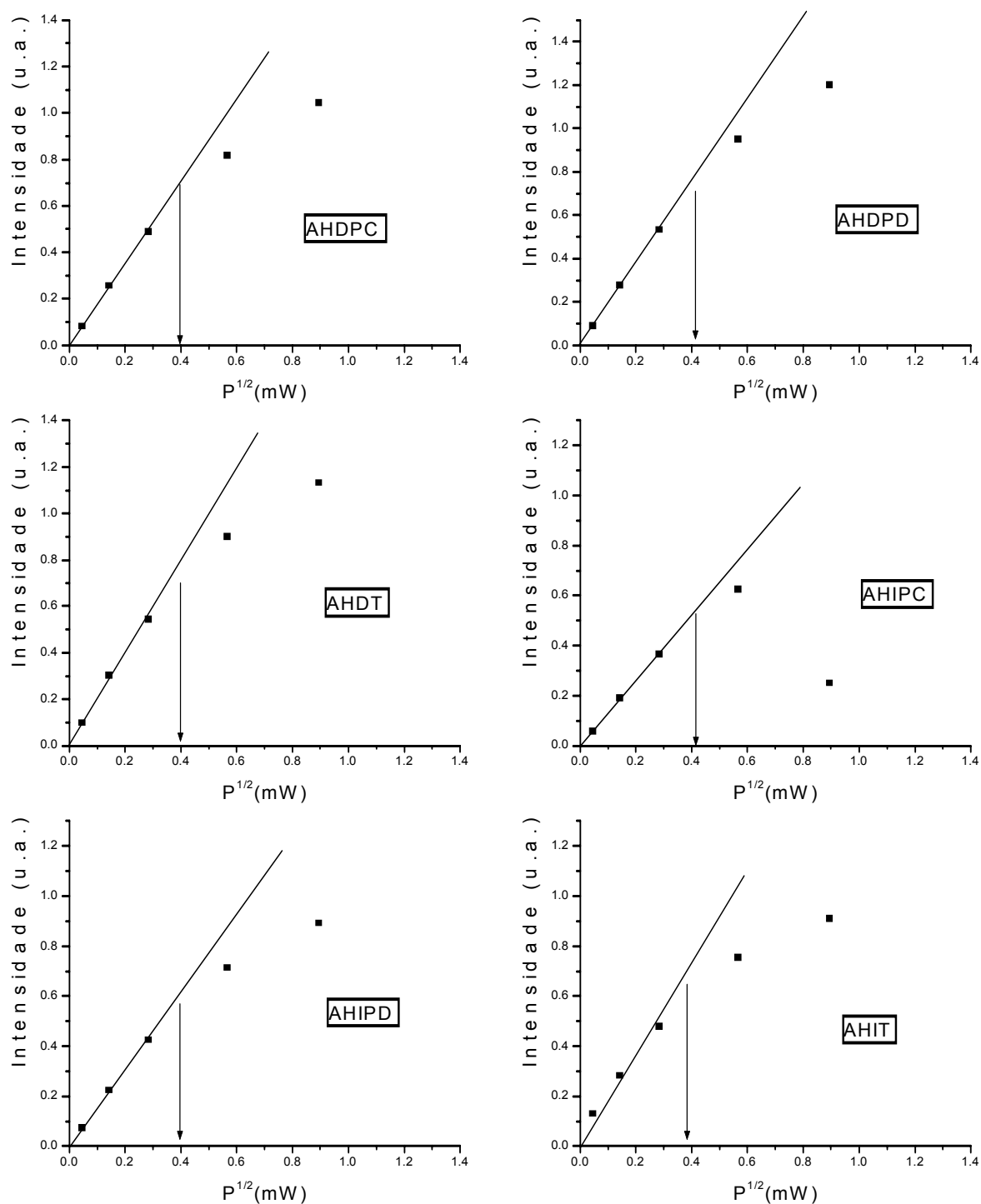


Figura 35 - Saturação de potência das amostras de AH.

Tabela 5 - Valores de potência a meia saturação ($P^{1/2}$) e largura de linha de radicais livres dos AH analisados.

AMOSTRA	$P^{1/2}$ (mW)	Largura de linha (G)
AHDPC	0,41	4,06
AHDPD	0,40	3,96
AHDT	0,39	3,81
AHIPC	0,42	4,20
AHIPD	0,42	4,20
AHIT	0,40	3,96

5.4 – ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Os espectros de fluorescência molecular na modalidade emissão dos AH e AF estudados estão representados nas Figuras 36 e 37, respectivamente, e os comprimentos de onda de máxima emissão e suas intensidades de fluorescência (IF_{EM}), obtidos através dos espectros de emissão, aparecem na Tabela 6.

Todos os espectros de emissão apresentam uma única e típica banda larga com máximo de emissão de 515 nm para os AH. A pequena banda centrada em 410 nm é atribuída ao espalhamento Raman. O comprimento de onda máximo de emissão dos AF (445-450 nm) são tipicamente menores do que seus correspondentes AH. Já as intensidades de fluorescência (u.a.) apresentam-se com valores maiores para os AF (ver valores no eixo y das Figuras 36 e 37).

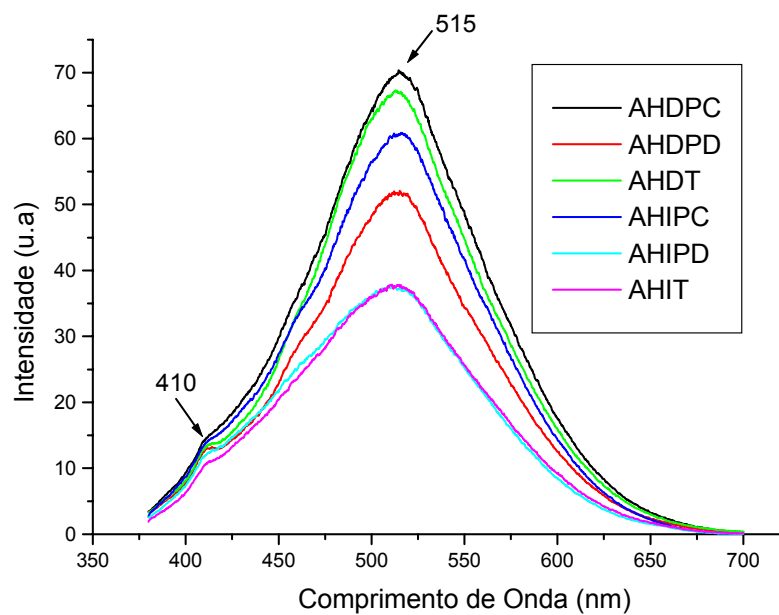


Figura 36 - Espectros de fluorescência na modalidade emissão (λ excitação = 360 nm) dos AH. Concentração 100 mg L^{-1} e pH = 9,2.

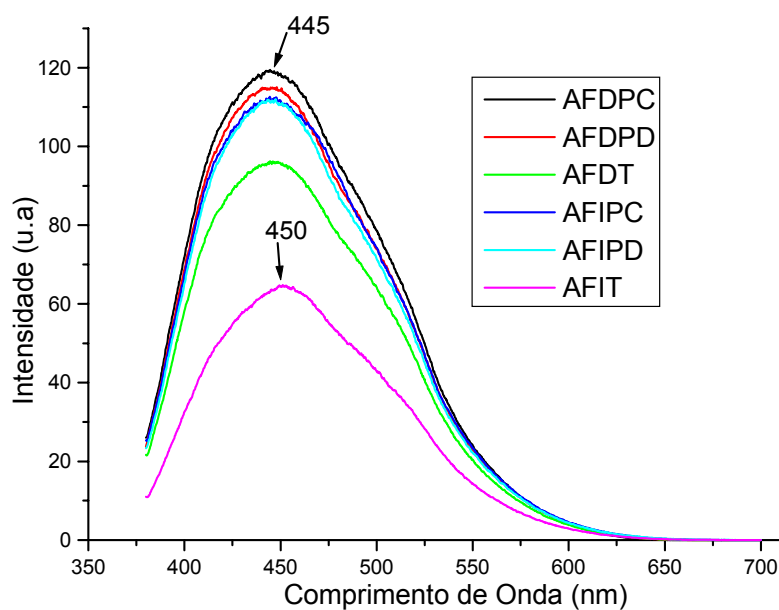


Figura 37 - Espectros de fluorescência na modalidade emissão (λ excitação = 360 nm) dos AF, obtidos diretamente da solução de extração (pH \sim 2,0).

Tabela 6 - Comprimentos de onda (nm) do pico máximo de emissão (PME) e respectivas intensidades de fluorescência (IF_{EM}), obtidos dos espectros de emissão dos AH e AF.

Amostras	Ácidos Húmicos		Ácidos Fúlvicos	
	PME (nm)	IF_{EM}	PME (nm)	IF_{EM}
DPC	515	70	445	119
DPD	515	52	445	115
DT	515	67	445	96
IPC	515	62	445	112
IPD	515	38	445	111
IT	515	37	450	65

Os espectros no modo sincronizado dos AH (Figura 38) diferem na forma dos seus correspondentes AF (Figura 39).

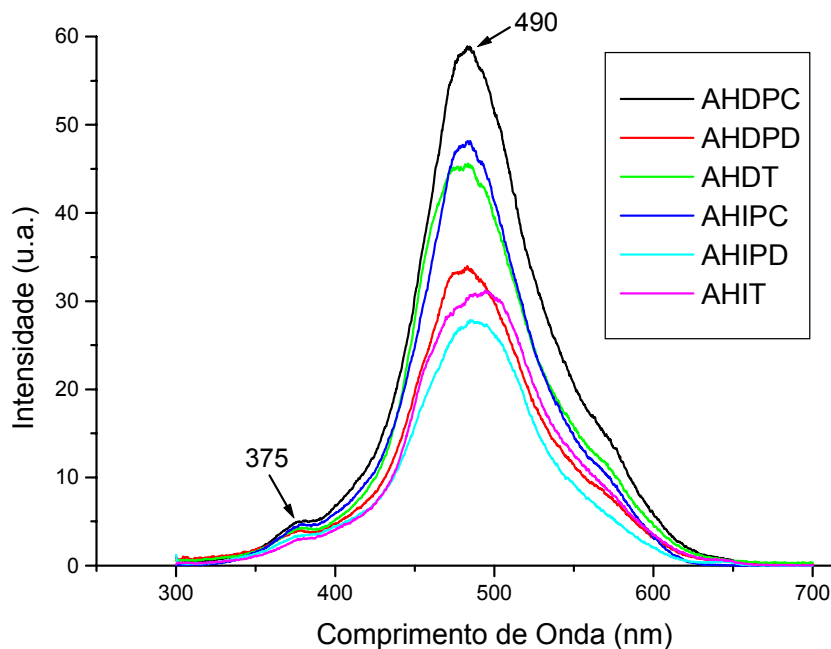


Figura 38 - Espectros de fluorescência na modalidade sincronizada (λ emissão = 300-700 nm e $\Delta\lambda = 18$ nm) dos AH em solução (concentração = 100 mg L^{-1} e pH = 9,2).

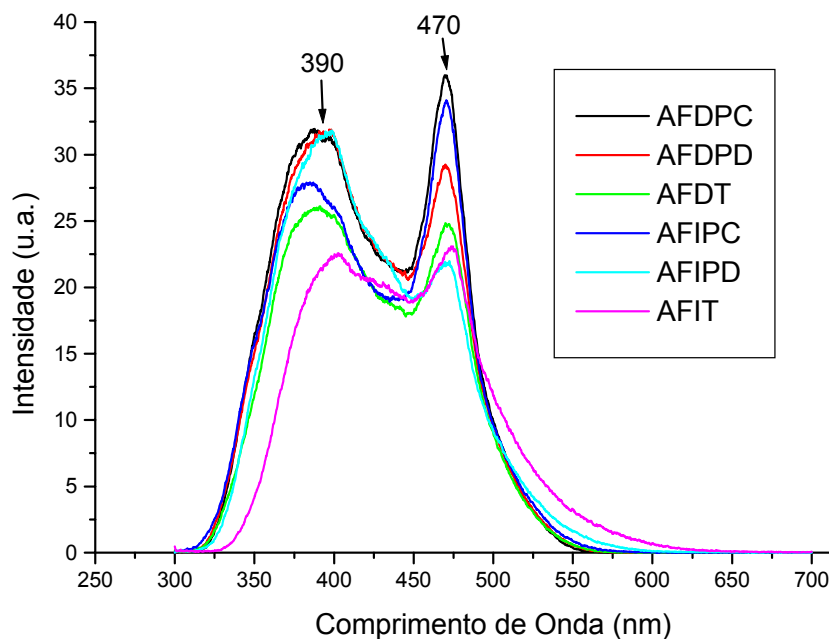


Figura 39 - Espectros de fluorescência na modalidade sincronizada (λ emissão = 300-700 nm e $\Delta\lambda = 18$ nm) dos AF, obtidos diretamente da solução de extração (pH = 2,0).

Neste caso, os AH contêm um pico dominante em 490 nm e outro bem menor em 375 nm, enquanto que os espectros dos AF mostram dois picos dominantes, um em 470 nm e o outro em 390 nm. Isto significa que os grupos fluoróforos que compõem os AH são dominados por policíclicos aromáticos de tamanho maior do que os que compõem os AF.

Os espectros de luminescência total no modo matriz excitação-emissão (ou mapas de contorno) dos AH e AF examinados estão representados nas Figuras 40 e 41, respectivamente, e os pares de comprimento de onda excitação-emissão (PCEE) do máximo do pico principal e as correspondentes intensidades de fluorescência, obtidas dos espectros de luminescência total estão listados na Tabela 7.

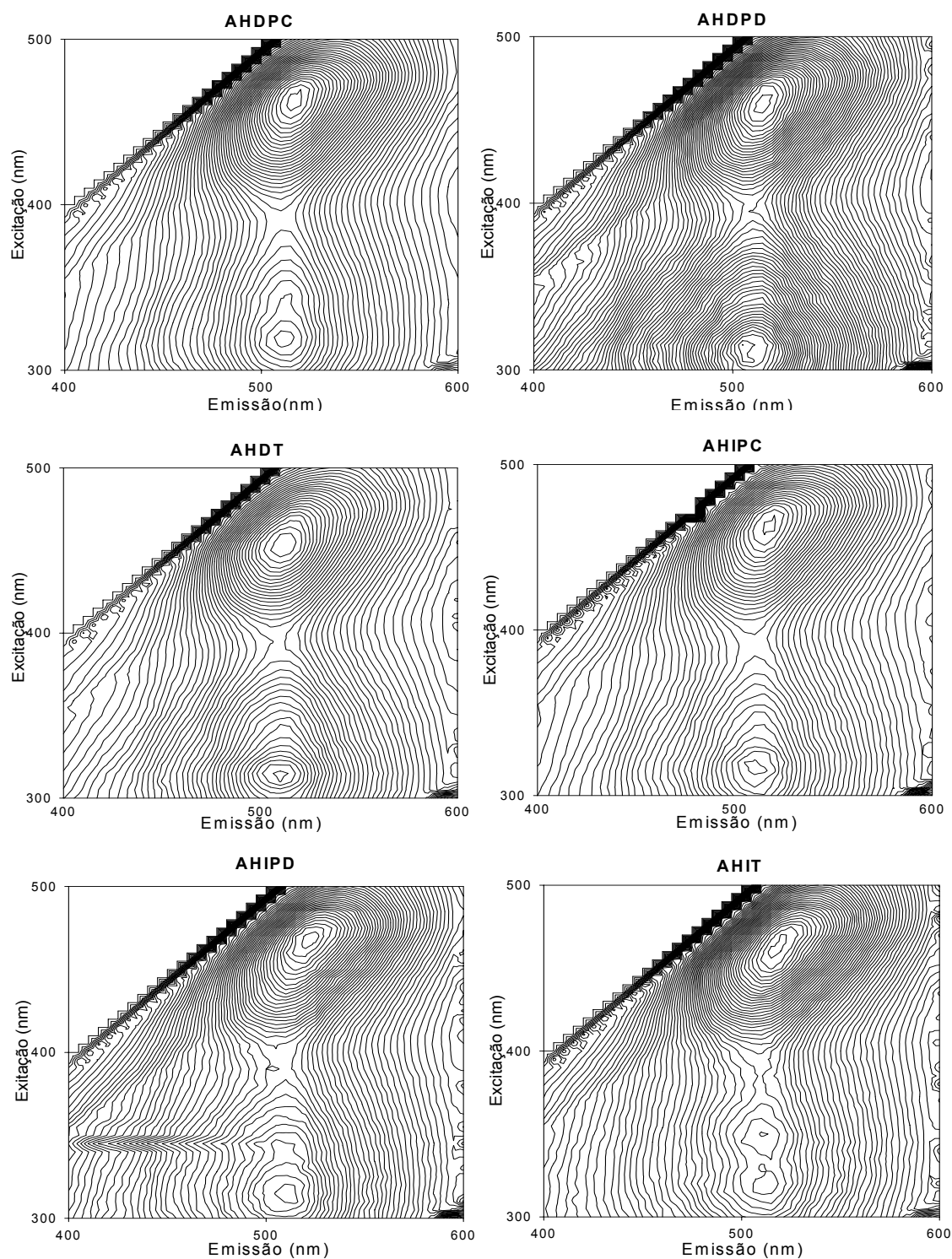


Figura 40 - Espectros de luminescência total no modo matriz excitação-emissão (ou mapas de contorno) dos AH.

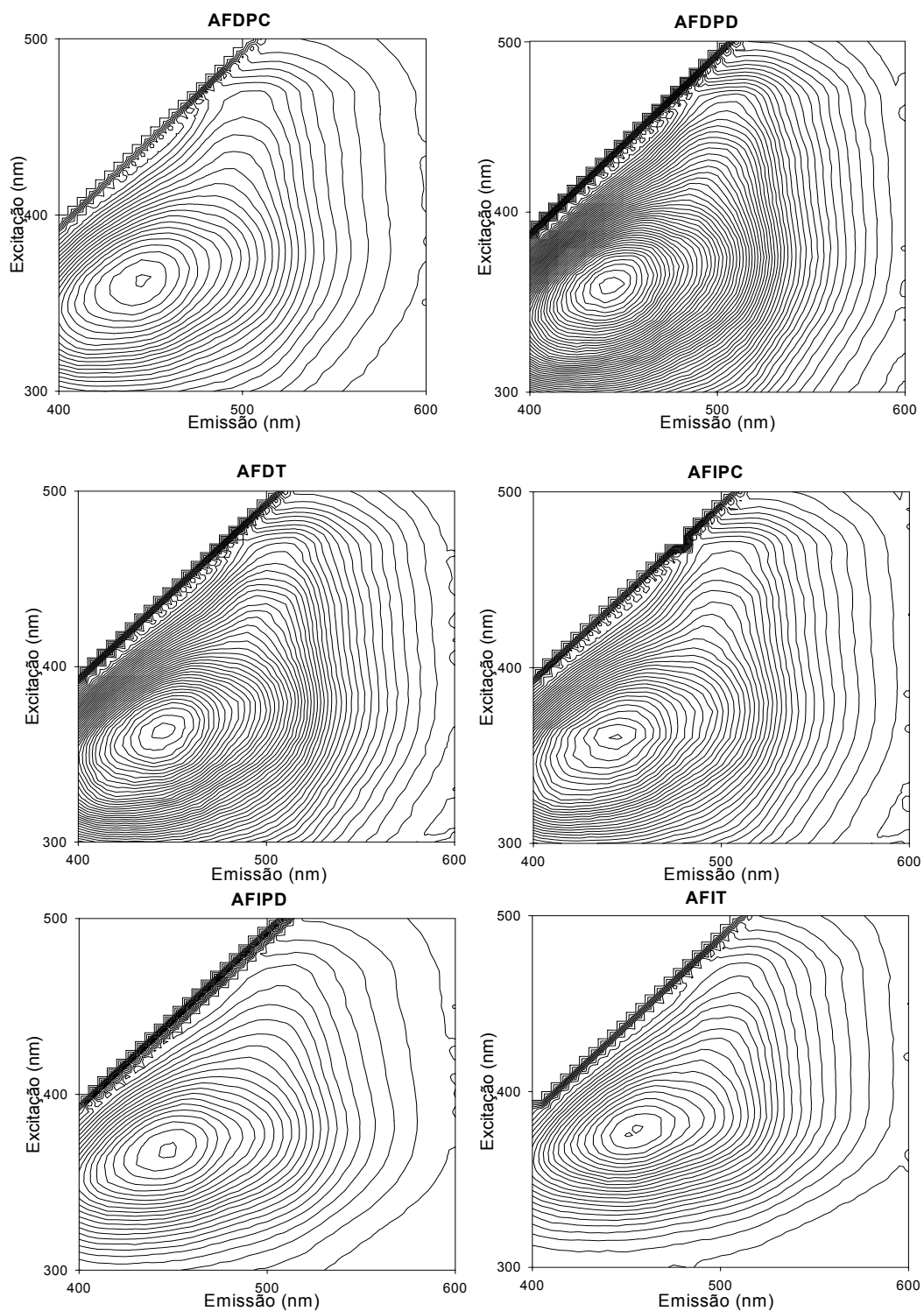


Figura 41 - Espectros de luminescência total no modo matriz excitação-emissão (ou mapas de contorno) dos AF.

Tabela 7 - Pares de comprimentos de onda excitação-emissão (PCEE, nm/nm) dos máximos dos picos principais nos espectros de luminescência total e as correspondentes intensidades de fluorescência (IF_{LT}) dos AH e AF estudados.

Amostras	Ácidos Húmicos		Ácidos Fúlvicos	
	PCEE	IF_{LT}	PCEE	IF_{LT}
DPC	460/520	108	365/445	125
DPD	460/515	64	360/445	118
DT	455/510	91	365/445	98
IPC	460/520	94	360/445	114
IPD	470/520	55	370/450	115
IT	465/520	62	380/455	75

Os espectros MEE da maioria dos AH contém dois picos localizados em comprimentos de onda de emissão longos (apenas a amostra AHIT mostra três picos), enquanto que os dos correspondentes AF contém um único fluoróforo em um valor intermediário do PCEE. As intensidades dos picos máximos dos AH foram menores do que dos AF.

AH de solos são caracterizados por apresentarem típicos comprimentos de onda longos de máxima emissão, espectros no modo sincronizado relativamente mais intensos, picos de luminescência total em longos comprimentos de onda e pequenos valores na IF_{EM} . Estes dados confirmam a presença nos AH de componentes de tamanho molecular grandes com cadeias compostas por anéis aromáticos linearmente condensados e outros sistemas com ligações insaturadas, que possuem um grande grau de conjugação, e, ainda, contém substituintes retiradores de elétrons, tais como grupos carbonílicos e carboxílicos (Senesi *et al.*, 1991; Valeur, 2001; Bertoncini *et al.*, 2005).

Por outro lado, nos AF de solos prevalecem picos de emissão máxima, modo sincronizado e luminescência total em comprimentos de onda curtos e altos valores de

IF_{EM}. Estes resultados podem estar relacionados com a presença de componentes estruturais simples de pequeno tamanho molecular, contendo substituintes doadores de elétrons, tais como hidroxil, metóxi e grupos amino, e pequenos níveis de policondensação aromática e cromóforos conjugados (Senesi *et al.*, 1991; Valeur, 2001; Bertoncini *et al.*, 2005).

Em todas as amostras examinadas (AH entre elas mesmas e AF da mesma forma), verificou-se que a posição dos PCEE apresentou pequenas diferenças, deslocando-se para maiores comprimentos de onda de emissão nas amostras do período inundado. Por outro lado, diferenças significativas puderam ser observadas nos valores das IF_{LT} (Tabela 7).

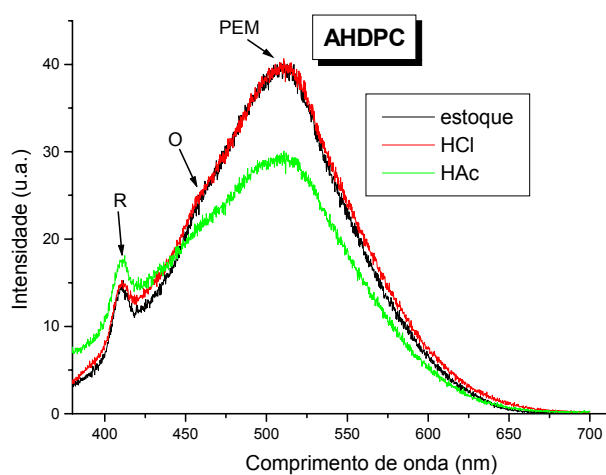
Valores mais baixos nas IF_{LT} foram notados nos AH extraídos dos solos sob condições de inundação, comparados com aqueles sob regime drenado. Esta verificação sugere a presença de componentes moleculares com tamanhos moleculares relativamente maiores, alto nível de poli condensação aromática e alto grau de humificação nos primeiros (Bertoncini *et al.*, 2005; Olendzki *et al.*, 2006b).

Com relação aos dois tipos de manejo empregados foi visto que as amostras sob plantio convencional (AHPC e AFPC) apresentam valores de IF_{LT} maiores que os observados para as sob plantio direto (AHPD e AHPD), indicando menor tamanho molecular e a presença de componentes menos humificados com a presença de mais grupos substituintes tais como hidroxil, metoxil e amino nas primeiras (Bertoncini *et al.*, 2005; Olendzki *et al.*, 2006b).

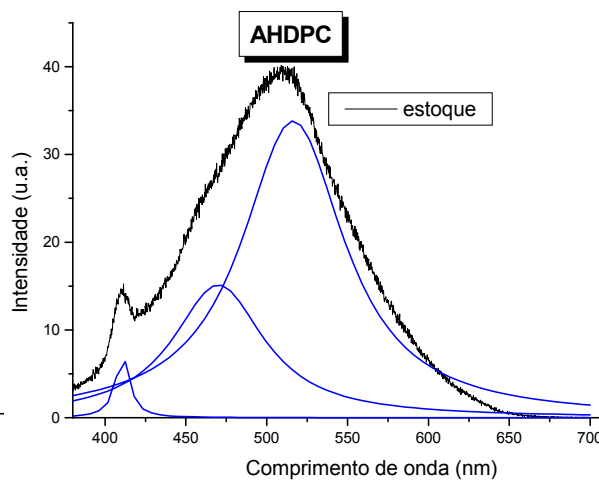
5.5 – MUDANÇAS MACROMOLECULARES NAS SH INDUZIDAS PELA INTERAÇÃO COM ÁCIDO ACÉTICO

Na Figura 42 podem ser vistos os espectros de fluorescência na modalidade emissão para os AH, antes e depois de serem tratados com HCl e ácido acético (HAc). A Figura 42(a) mostra os espectros juntos, onde nota-se, em todos, um pico de emissão máxima (PEM) por volta de 515 nm, um ombro (O) próximo de 460 nm e o pico de

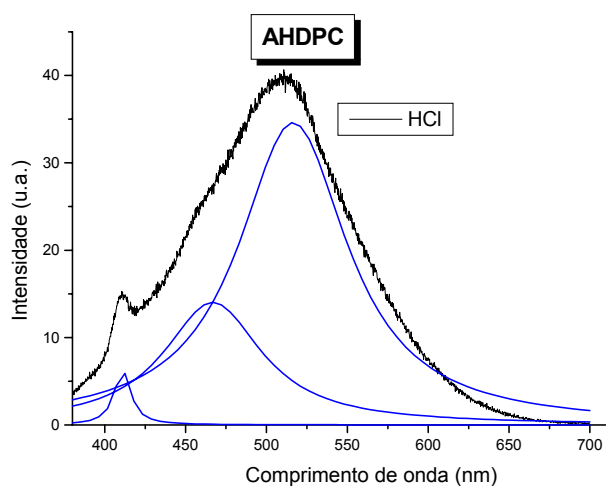
espalhamento Raman (R) localizado em 410 nm. Pode ser visto, ainda que os espectros das soluções estoque apresentaram-se muito semelhantes, quanto à forma, aos das tratadas com HCl. Já os espectros das soluções tratadas com HAc mostraram uma queda na intensidade de fluorescência do PEM em relação aos outros, melhor visualizada nos espectros deconvoluídos (Figura 42 (b),(c) e (d)) .



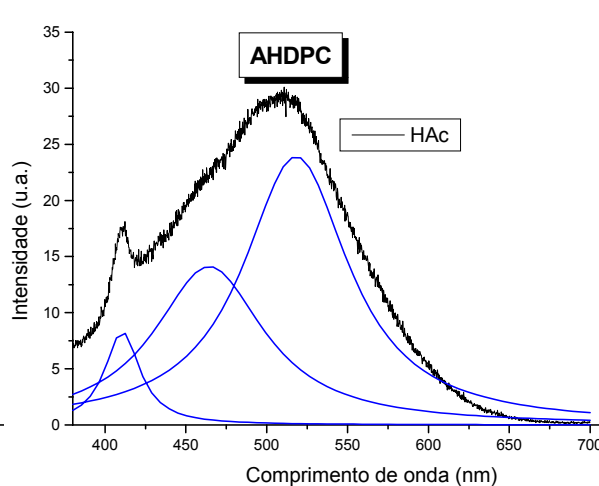
(a)



(b)

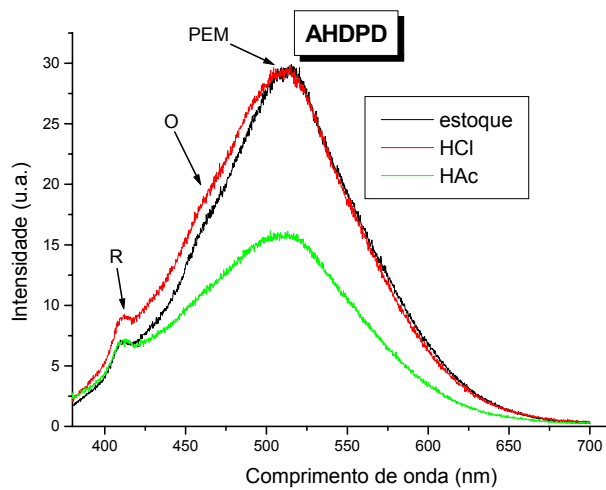


(c)

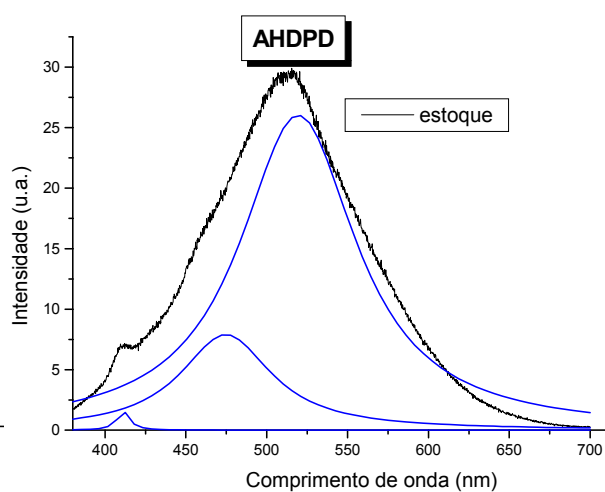


(d)

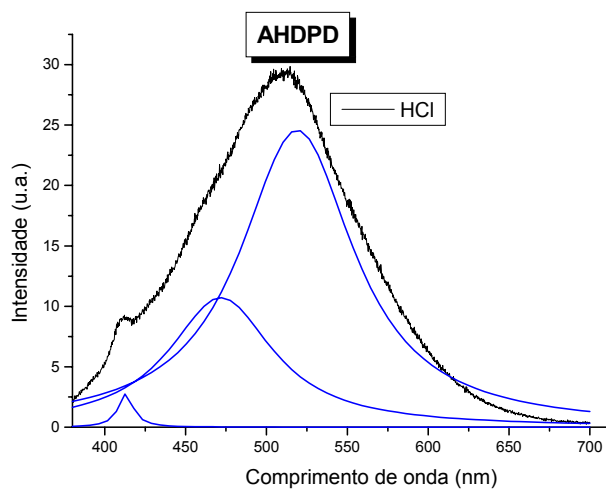
Continuação da Figura 42



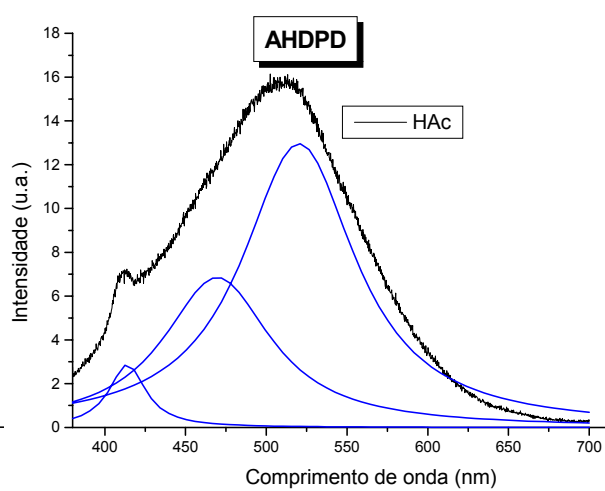
(a)



(b)

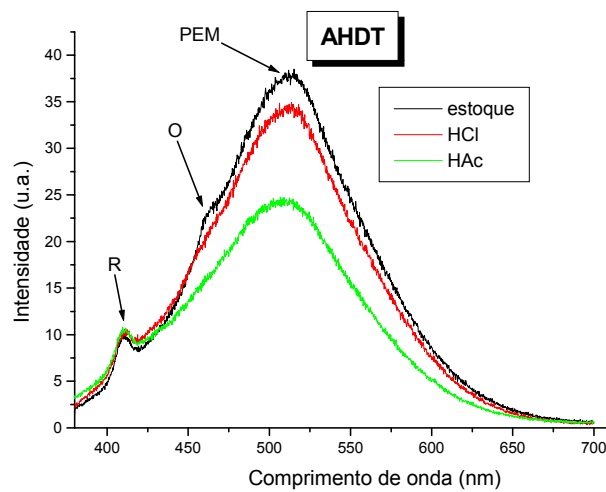


(c)

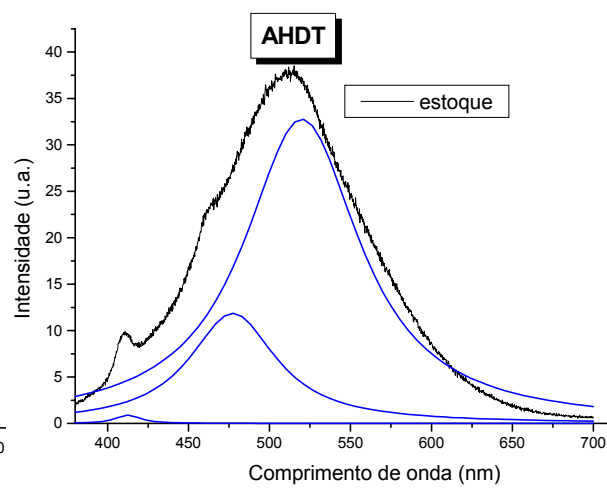


(d)

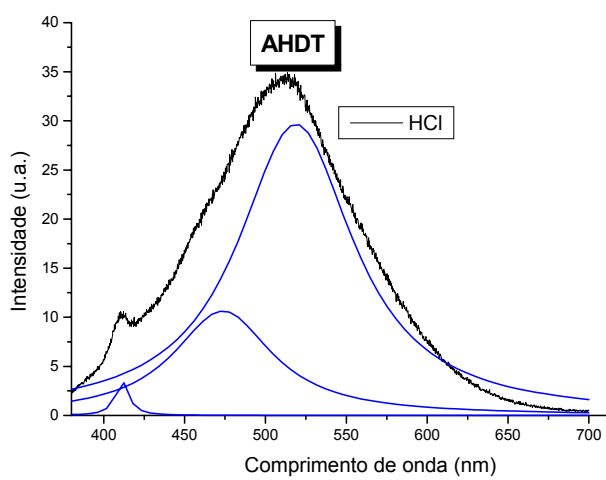
Continuação da Figura 42



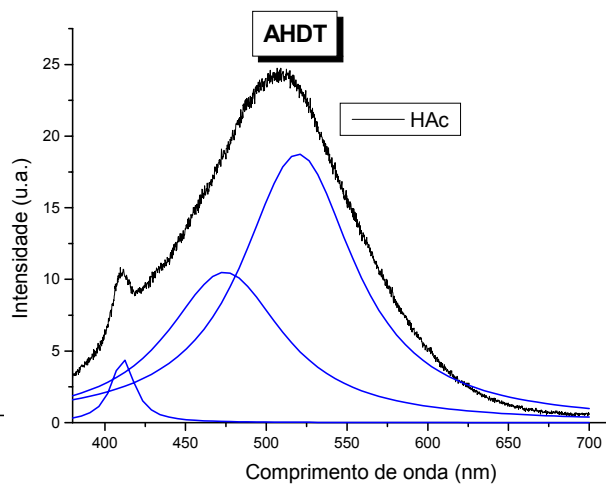
(a)



(b)

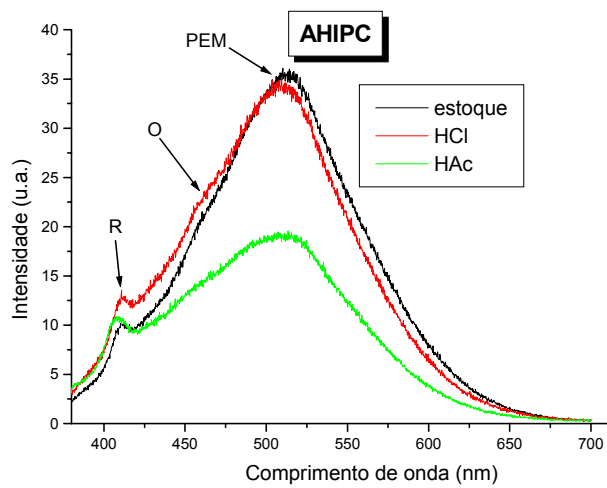


(c)

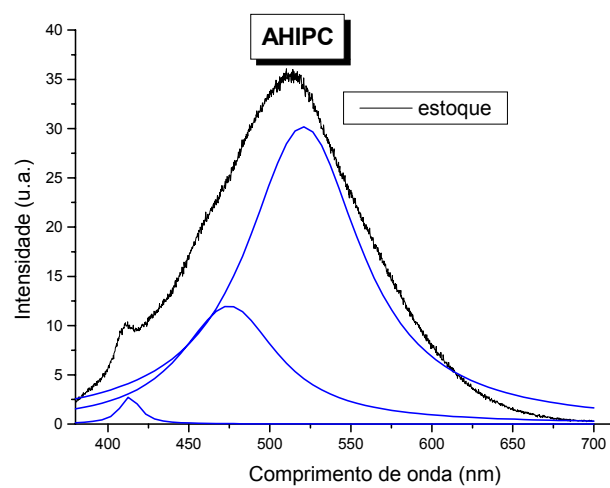


(d)

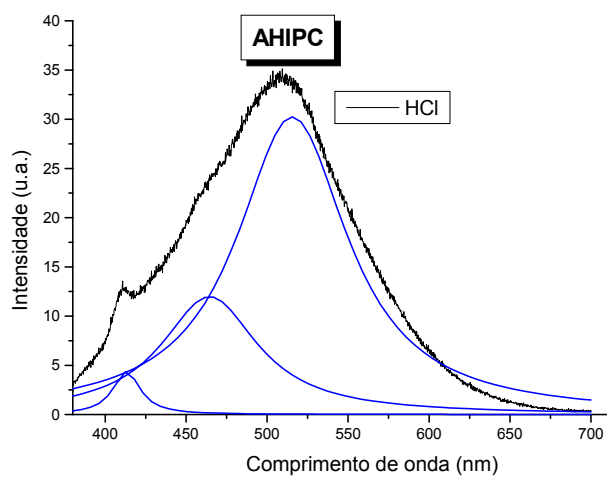
Continuação da Figura 42



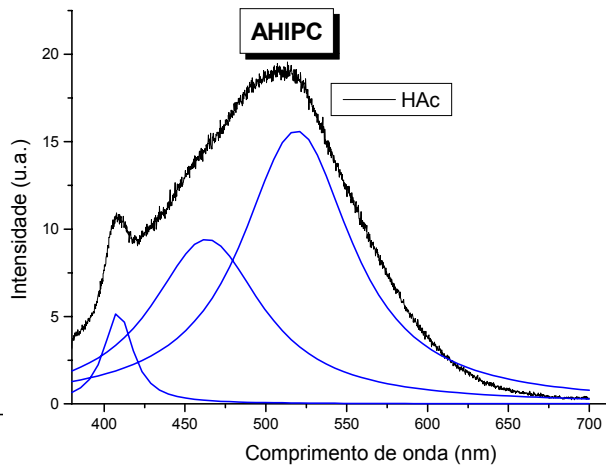
(a)



(b)

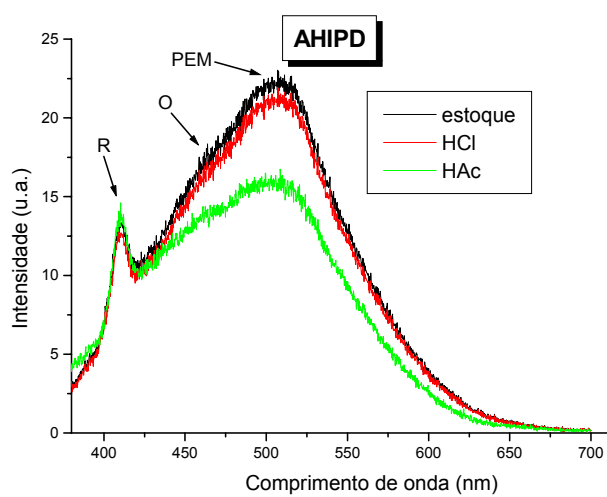


(c)

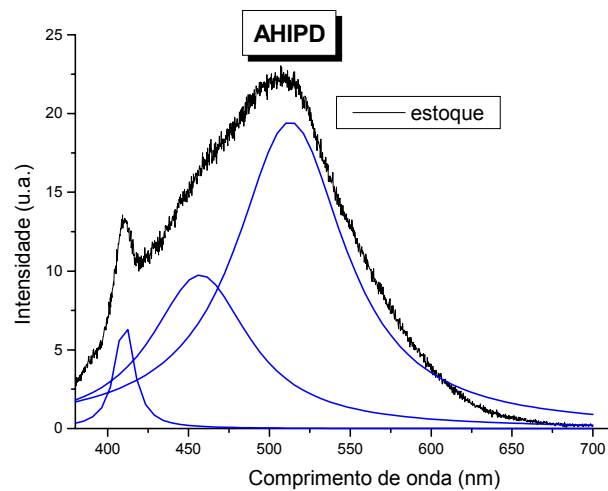


(d)

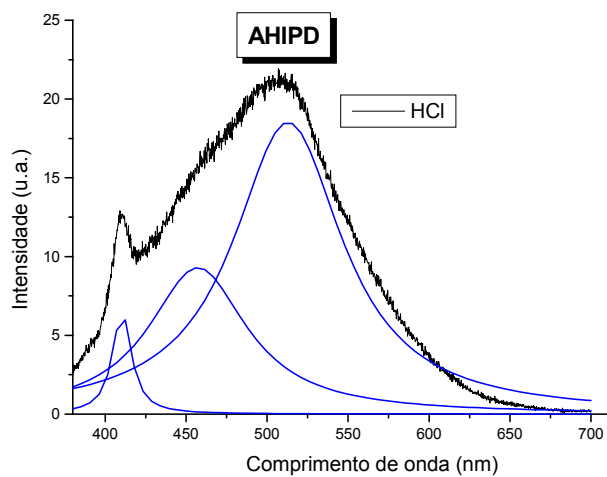
Continuação da Figura 42



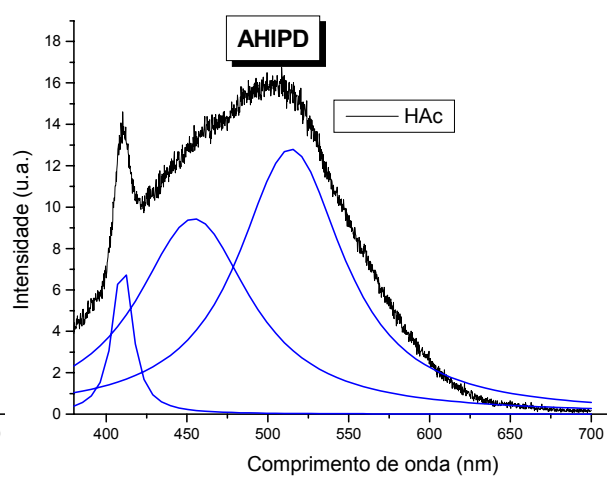
(a)



(b)



(c)



(d)

Continuação da Figura 42

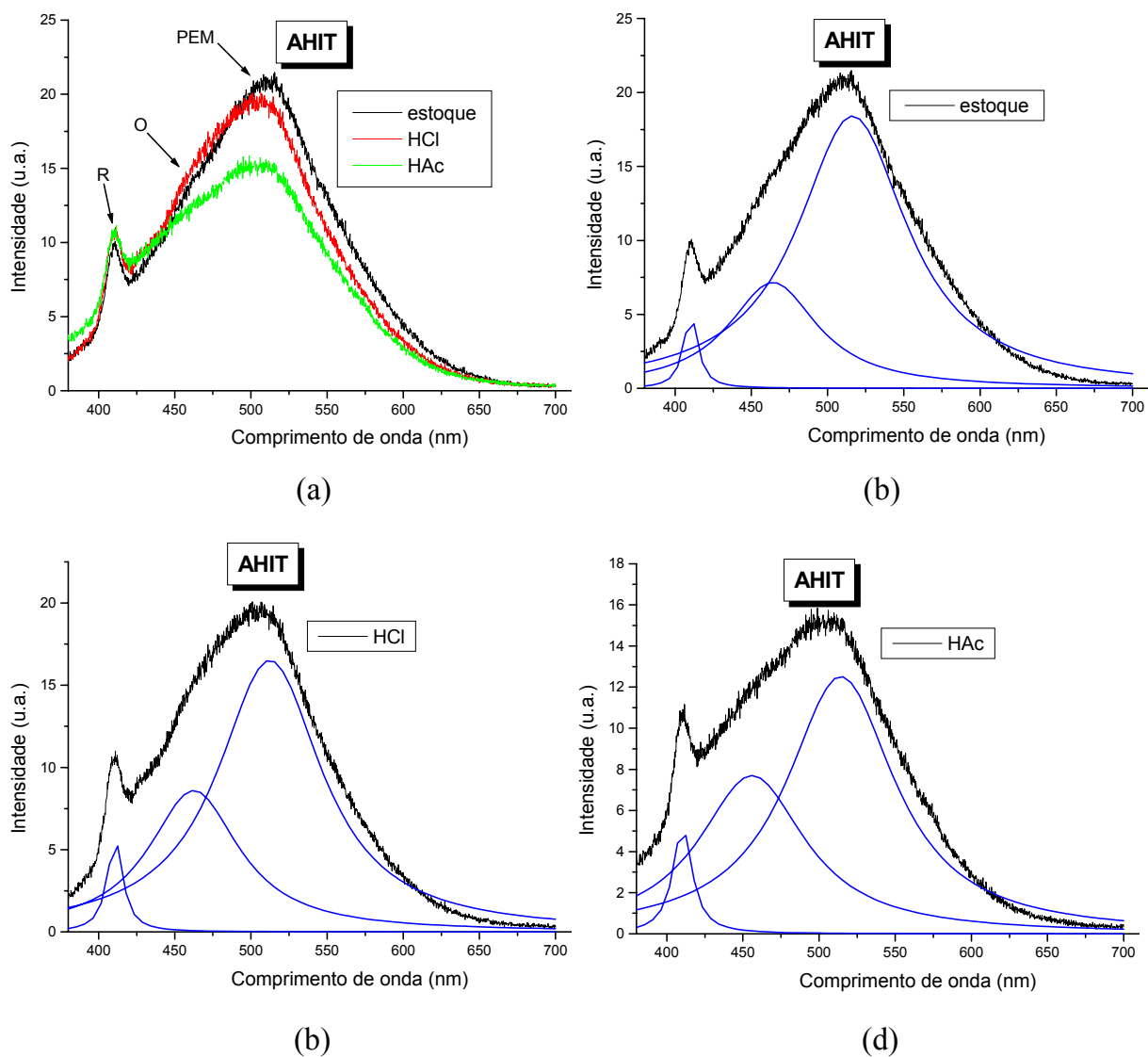


Figura 42 - Espectros de fluorescência modalidade emissão para as soluções estoque de AH e tratados com ácidos (a), soluções estoque (b), tratados com HCl (c) e tratados com HAc (d). Os espectros (a) apresentaram um pico de emissão máxima (PEM), um ombro (O) e o pico do espalhamento Raman (R). Os espectros (b), (c) e (d) mostram os picos anteriores deconvoluídos, em azul.

Os espectros de fluorescência modalidade sincronizada das soluções estoque dos AH, bem como destas tratadas com HCl e HAc podem ser vistos na Figura 43.

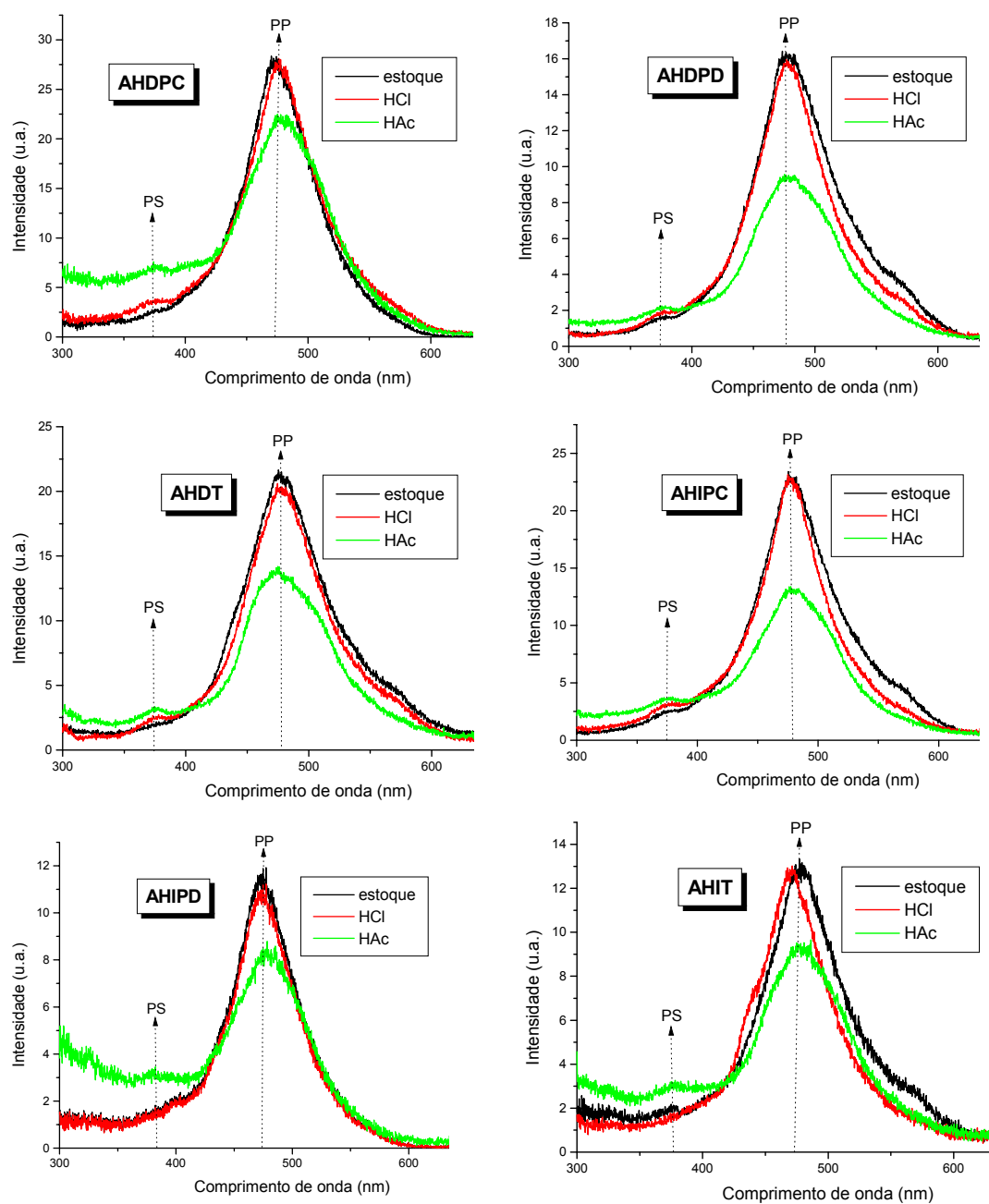


Figura 43 - Espectros de fluorescência modalidade sincronizada ($\Delta\lambda = 18$ nm) das soluções estoque dos AH e tratadas com HCl e HAc. Todas apresentam um pico principal (PP) e um secundário (PS).

Novamente, neste caso, pode-se ver que as soluções dos AH que foram tratadas com HAc apresentaram um decréscimo na intensidade de fluorescência do pico principal (PP) em relação às outras (Figura 43). Este decréscimo de intensidade, tanto no PEM (emissão) como no PP (sincronizada), dos espectros de fluorescência pode ter sido causado por um deslocamento de tais picos para outros comprimentos de onda, que parecem ser menores. Este deslocamento poderia estar relacionado com a ação de desagregação molecular causada pelo HAc, formando aglomerados húmicos de menor tamanho, com comportamento micelar. Investigações por técnicas de supressão de intensidade de fluorescência (quenching) forneceram evidências da existência de microdomínios hidrofóbicos em associações húmicas (Engebretson e von Wandruszka, 1994). Piccolo *et al.* (1996) estudaram a influência de ácidos orgânicos e minerais sobre as propriedades conformacionais de SH, utilizando cromatografia de permeação em gel em baixa pressão com detecção em UV-VIS e, obtiveram resultados que permitiram concluir que estas substâncias comportam-se como micelas em solução e que as ligações hidrofóbicas desenvolvem um papel importante na agregação de moléculas húmicas. Outra importante constatação neste sentido foi que após as soluções estoque dos AH serem tratadas com HAc e, nova elevação do pH, desenvolveram-se bolhas na superfície quando estas foram agitadas, muito semelhante a surfatantes.

Estes resultados sugerem que as SH aqui estudadas comportam-se como micelas em solução. Quando ácidos orgânicos, como o ácido acético, são adicionados a soluções húmicas os componentes alifáticos hidrofóbicos deles entram em sítios também hidrofóbicos da micela húmica e podem desfazer seu arranjo estereoquímico, portanto alterando a estabilidade das ligações hidrofóbicas que mantêm junta a parte hidrofóbica maior do agregado tipo micela húmica, no mesmo momento que os grupos carboxílicos dos ácidos orgânicos estão posicionados nas interfaces entre as micelas e a água (Piccolo *et al.*, 1996). Este fato não ocorre pelo tratamento com ácidos minerais, uma vez que estes somente possuem parte hidrofílica.

A desagregação de associações húmicas supramoleculares como um resultado da formação de ligações de hidrogênio mais fortes que as forças hidrofóbicas que estabilizam a conformação original foi mostrada por Miano *et al.*, (1992). Eles usaram as espectroscopias de fluorescência e infravermelho para investigar os efeitos da adição do herbicida glifosato [N-(fosfonometil)glicina] em uma solução húmica purificada para levar o pH de 9,0 para valores progressivamente menores. Os espectros de fluorescência sincronizada apresentaram um decréscimo na intensidade do pico principal com o aumento das adições do herbicida. Este resultado foi interpretado em termos de uma desagregação da associação supramolecular húmica como o resultado da formação de ligações múltiplas de hidrogênio entre o glifosato e as pequenas moléculas húmicas.

Segundo Piccolo (2001), o novo entendimento das SH como associações supramoleculares tem grandes implicações no manejo do solo e ambiente. Um deles seria a possibilidade de tornar estas substâncias em reais polímeros ligados covalentemente através da tecnologia catalítica, com isso podendo aumentar o controle de emissão de CO₂ pelos solos utilizados na agricultura, seqüestrando o carbono orgânico em um húmus polimerizado mais estável.

5.6 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FUNÇÕES ORGÂNICAS EM AH E HU USANDO O MÉTODO QUIMIOMÉTRICO PLS APLICADO A DADOS ESPECTROSCÓPICOS DE DRIFT

As áreas dos picos de CPMAS ¹³C NMR estimados através do modelo PLS desenvolvido para as amostras de HU e AH estão mostradas na Tabela 8.

De todas as proporções relativas, os valores mais pronunciados (24-30%) ocorrem na região de 62-110 ppm, que é atribuída a C alquílico ligado a O (Tabela 8) e C aromático (20-28%) na faixa de 110-155 ppm.

Tabela 8 – Proporções relativas de diferentes grupos de carbono calculadas pelo modelo PLS para HU e AH. Na última coluna aparece a porcentagem de C aromático total (soma das porcentagens de C aromático ligado a O ou N e C aromático ligado a H ou C).

Amostra	C Carbonílico (%) 185-230 (ppm)	C Carboxílico (%) 155-185 (ppm)	C aromático ligado a O, N (%) 142-155 (ppm)	C aromático ligado a H, C (%) 110-142 (ppm)	C alquílico ligado a O(%) 62-110 (ppm)	C metoxílico (%) 44-62 (ppm)	C alquílico (%) 0-44 (ppm)	C aromático total (%) 110-155 (ppm)
HUDPC	3,49	18,26	5,99	15,24	29,45	3,14	24,41	21,23
HUDPD	3,15	18,60	5,26	14,79	30,23	2,73	25,23	20,06
HUDT	3,81	16,91	7,10	15,94	27,91	4,93	23,38	23,05
HUIPC	3,75	17,95	6,90	15,17	28,89	3,56	23,77	22,07
HUIPD	3,94	14,71	7,71	16,13	26,57	8,30	22,64	23,84
HUIT	3,71	15,04	6,91	15,80	27,31	8,08	23,14	22,72
AHDPC	3,10	14,76	6,71	20,35	25,74	13,03	16,31	27,06
AHDPD	3,04	14,53	6,81	21,06	25,24	13,31	16,01	27,86
AHDT	3,16	14,23	8,36	19,11	25,46	14,23	15,43	27,48
AHIPC	3,29	14,45	6,02	21,99	24,96	13,03	16,25	28,02
AHIPD	2,41	14,50	6,96	21,06	25,32	13,69	16,06	28,02
AHIT	2,76	13,84	7,43	21,09	24,67	14,21	16,00	28,52

Em seguida aparece o C alquílico (15-25%), seguido por C carboxílico (13-19%), C metoxílico (2-14%) e, finalmente C carbonílico (2-4%) (Tabela 8). Variação comparável da composição de carbonos a este estudo foi observada na MOS de Western Massachusetts (mesic Lithic Dystrudept) (Kang *et al.*, 2003). Estes dados (Tabela 8) revelaram, em particular, que as amostras HU contém maior proporção de C alquílico, mas menor de C alquílico ligado a O (resultado da soma das colunas relativas ao C metoxílico e C alquílico ligado a O, na faixa entre 44-110 ppm) e C aromático total que os correspondentes HA. Hatcher *et al.*, (1983) sugeriram que o aumento na proporção de C

alquílico por processos de decomposição é o resultado da utilização de carboidratos de fácil decomposição, que é o principal componente da fração C alquílico ligado a O, pelos microrganismos do solo, e a preservação do C alquílico mais recalcitrante associado com biopolímeros originais de plantas tais como cutina, suberina e ceras.

Os resultados mostram que as frações AH exibem maiores conteúdos de C aromático total e menores proporções de C alquílico do que as respectivas frações HU. Em outras palavras, de acordo com Preston (1996) e Baldock *et al.*, (1997), esta composição caracteriza uma MOS de alto grau de humificação para as primeiras e MO com alto grau de decomposição e mais recalcitrante, para as últimas.

Além disso, as amostras relativas ao período drenado (AH e HU) apresentaram teores menores de C aromático total (110-155 ppm), maiores de C alquílico (0-44 ppm) e de C carboxílico (155-185 ppm), estando de acordo com a reação de oxidação de anéis benzênicos, nestas amostras, proposta na seção 5.1.

Uma constatação importante obtida a partir destes dados sugere que a razão E_4/E_6 (Tabela 2 – Seção 5.1) e o conteúdo de C aromático total previsto para as amostras (Tabela 8) variaram de forma inversa (Gondar *et al.*, 2005), mostrando uma boa correlação ($R = 0,90$) entre eles (Figura 44) indicando que o modelo PLS desenvolvido aqui apresenta resultados confiáveis, uma vez que ainda não se tem a confirmação dos dados espectrais de CPMAS ^{13}C NMR. Saab *et al.* (1999) usando dados de CPMAS ^{13}C NMR e valores da razão E_4/E_6 para AH encontraram um coeficiente de correlação ainda melhor ($R = 0.97$) trabalhando com desacoplamento C-H na obtenção de dados por CPMAS ^{13}C NMR, uma vez que esta técnica detecta somente carbonos quaternários. Isto sugere que o modelo PLS, aplicado neste trabalho, poderia apresentar resultados melhores se tivesse sido construído de maneira semelhante. Mesmo assim, estes resultados parecem ser significativos porque foram usados dados de amostras no estado sólido, tanto no DRIFT quanto no DR UV-VIS por reflectância difusa. Sabe-se que espectros de UV-VIS de SH em soluções aquosas são problemáticos porque somente parte da amostra estará realmente na solução, portanto os resultados e conclusões obtidos por espectroscopias de

reflectância difusa são mais representativos da estrutura real da MOS (Olendzki *et al.*, 2006a).

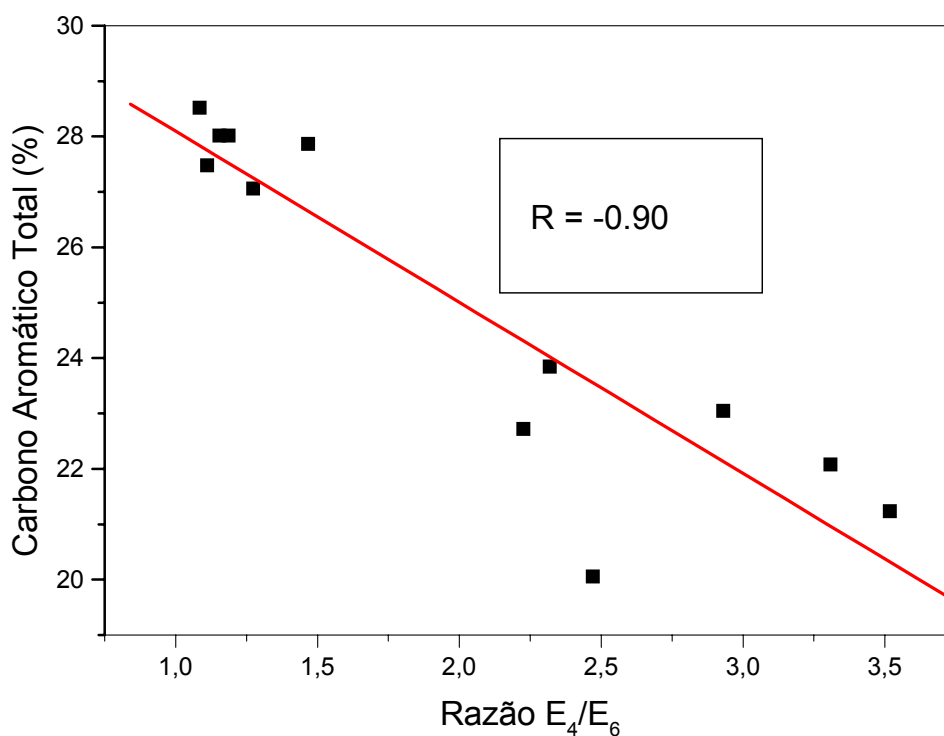


Figura 44 - Correlação entre as razões E_4/E_6 e conteúdos de carbono aromático total (calculado através do modelo PLS) para HU e AH. R representa o coeficiente de correlação.

5.7 – DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (XRD)

Os difratogramas de raios-X dos AH estão demonstrados na Figura 45. Nela aparecem picos largos entre $10-30^\circ$ de 2θ característicos para matéria orgânica amorfa.

O pico em 0,43 nm é dominante para as amostras AHIPD e AHIT. Já para as demais as intensidades dos picos em 0,43 e 0,35 nm são aparentemente iguais. Apenas

para a amostra AHIPC, a análise foi prejudicada pela presença de linhas finas na região de 0,35 nm, atribuídas a impurezas de quartzo.

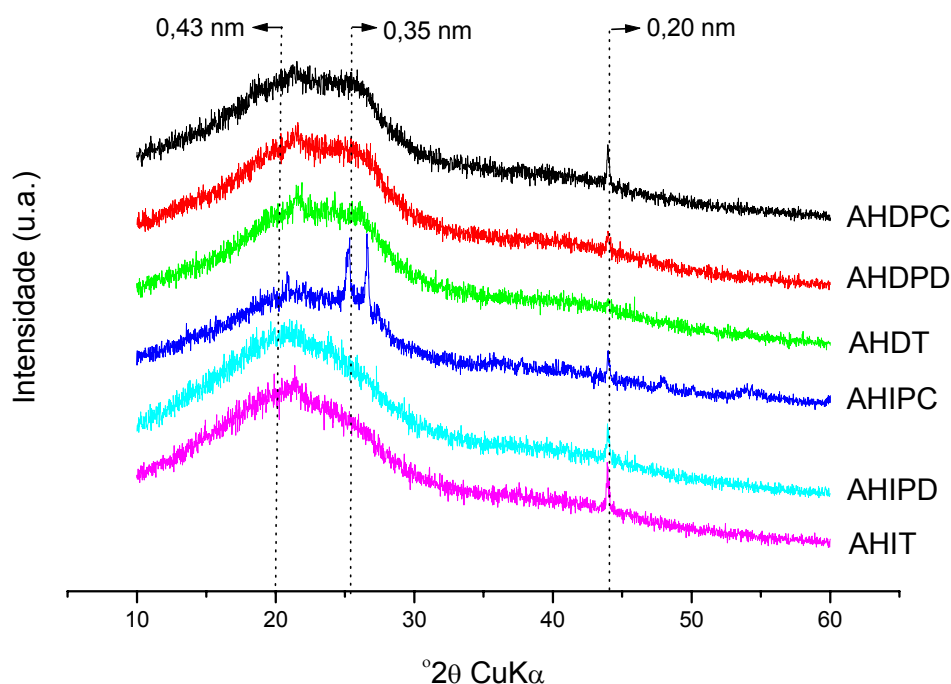


Figura 45 – Difrátogramas de raios-X dos ácidos húmicos

Os picos em 0,35 nm e 0,20 nm são freqüentemente relacionados como picos gráfiticos, sendo o primeiro atribuído a carbonos empacotados de forma condensada em núcleos de AH. Estes carbonos condensados são principalmente de estruturas aromáticas (Schnitzer *et al.*, 1991). Em contraste, o pico em 0,43 nm é atribuído primariamente ao carbono em cadeias laterais alifáticas, que estão empacotados de forma menos condensada. Utilizando XRD, Schnitzer e seus colaboradores (1991) também relataram a presença de regiões alifáticas expandidas e aromáticas condensadas em substâncias húmicas de várias regiões. Estas observações estão em concordância com o conceito que a matéria orgânica do solo é constituída pelos dois domínios condensado e expandido (Xing *et al.*, 1996; Xing e Pignatello, 1997; Leboeuf e Weber, 1997; Huang *et al.*, 1997; Huang e Weber, 1997).

Os AH nos horizontes de superfície orgânica (0-20 cm de profundidade) são derivados principalmente da recente incorporação da vegetação e, portanto são bem mais “jovens” que AH de horizontes minerais (maior profundidade). O deslocamento progressivo do pico em 0,43 nm para o em 0,35 nm pode indicar um adicional desenvolvimento de estruturas aromáticas condensadas.

Os difratogramas de raios-X das HU, representados na Figura 46, são compostos por picos finos e bem definidos, bem diferentes quando comparados com os dos AH. Isso se deve à presença de estruturas mais cristalinas, uma vez que a fração HU não foi tratada com HF/HCl. Não há diferenças aparentes entre os difratogramas das amostras analisadas. Nota-se que essa fração é dominada pela matriz argilomineral como demonstrado pelos picos em 4,25, 3,35, 2,45, 2,28, 2,23, 2,12, 1,98, 1,82, 1,67, 1,54 e 1,45 Å correspondentes às reflexões do quartzo (Brindley e Brown, 1980).

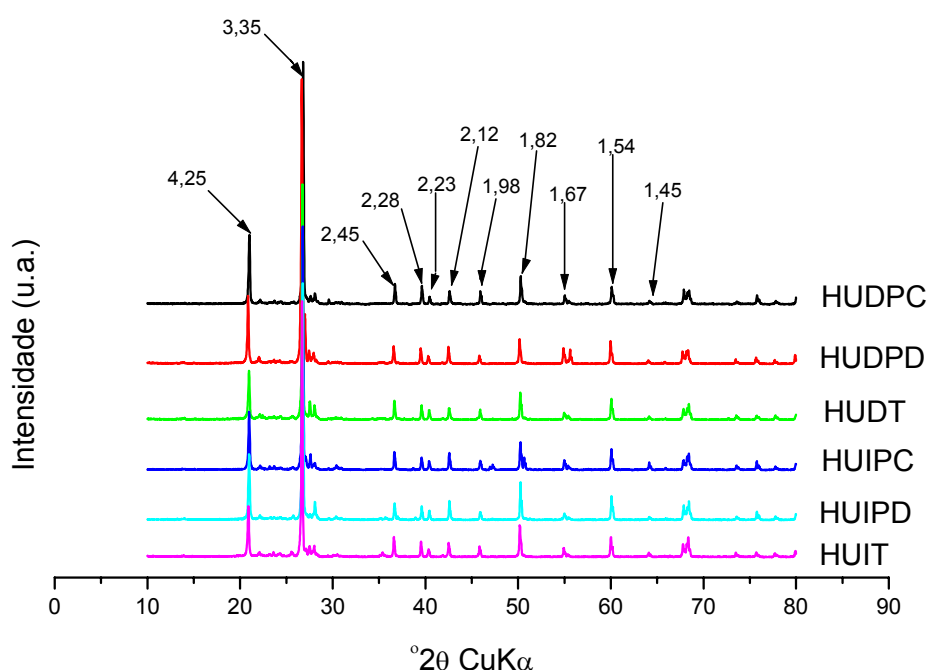


Figura 46 - Difratogramas de raios-X das huminas. As flechas indicam as posições dos picos referentes ao quartzo.

Castilhos *et al.* (2002) estudaram a composição mineralógica de um Planossolo Hidromórfico do sul do Rio Grande do Sul e confirmaram por XRD principalmente a presença de feldspatos, micas e esmectitas em sua composição. A presença de quartzo em grande quantidade, que apresenta picos muito intensos, dificulta o reconhecimento e atribuição de picos referentes a outros argilominerais. Por isso, a partir de novos difratogramas realizados nas frações argila dos solos estudados (Figura 47) e, baseado nas informações de Castilhos *et al.* (2002) e nos dados da Tabela 9 (Brasil, 1973) pode-se ter idéia de alguns componentes que possivelmente estão presentes, tais como goetita, com reflexões em 4,21, 2,69, 2,44, 2,18 e 1,72 Å; ferridrita, em 2,45, 2,25 e 1,95 Å, albita, em 4,02, 3,77, 3,66, 3,21, 3,18 Å, anortita, em 4,03, 3,74, 3,61, 3,20 e 3,16 Å, microclina, em 4,21, 3,83, 3,48, 3,37, 3,29 e 3,25 Å, ilmenita, em 2,75, 2,54, 1,867, 1,726 e 1,507 Å, titanita, em 3,23, 2,99, 2,60, 2,27 e 2,06 Å, biotita, em 3,37, 2,66, 2,54 e 2,18 Å, caulinita, em 7,15, 3,57, 2,55, 2,49 e 2,33 Å, pirolusita, em 3,11, 2,40, 2,11, 1,623 e 1,303 Å, manganita, em 3,38, 2,62, 2,41, 2,26 e 1,661 Å, e cuprita, em 2,46, 2,13, 1,50 e 1,284 Å (Herramientas, 2005).

Tabela 9 - Quantidade, em porcentagem, dos principais óxidos e, em mmol/100 g dos principais cátions presentes na camada arável (0-20 cm) de um Planossolo Hidromórfico do sul do estado do Rio Grande do Sul (Brasil, 1973).

PORCENTAGEM						mmol/100 g				
SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	P ₂ O ₅	MnO	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺
10,5	4,0	1,2	0,46	0,01	---	3,6	2,6	0,07	0,29	3,3

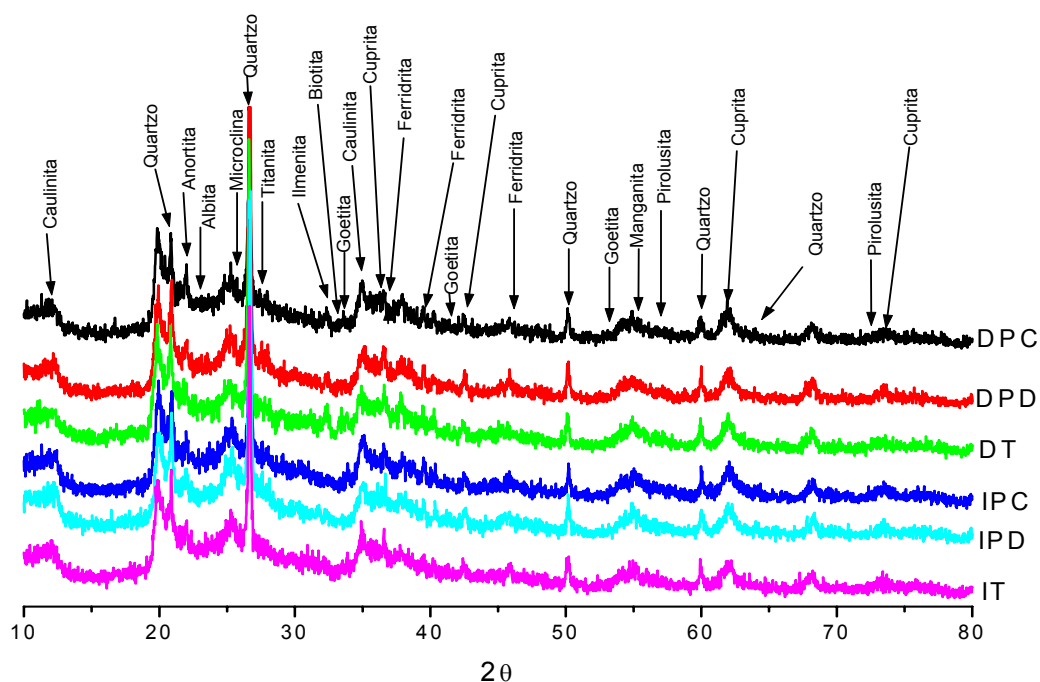


Figura 47 - Difrátogramas de raios-X das frações argila dos solos estudados. As flechas indicam a posição de picos referentes aos principais minerais e argila encontrados neste tipo de solo.

A Tabela 10 traz as fórmulas químicas dos principais minerais e argila presentes na fração argila dos solos estudados.

Tabela 10 - Fórmulas químicas dos principais componentes presentes na fração argila dos solos estudados.

COMPONENTE	FÓRMULA QUÍMICA
GOETITA	$\text{Fe}^{3+}\text{O}(\text{OH})$
FERRIDRITA	$\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n \text{H}_2\text{O}$
ALBITA	$\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$
ANORTITA	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$
MICROCLINA	KAlSi_3O_8
ILMENITA	$\text{Fe}^{2+}\text{TiO}_3$

Continuação da Tabela 10

TITANITA	CaTiSiO_5
BIOTITA	$\text{K}(\text{Mg}, \text{Fe}^{2+})(\text{Al}, \text{Fe}^{3+})\text{Si}_3\text{O}_{10}(\text{OH}, \text{F})_2$
CAULINITA	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$
PIROLUSITA	Mn^{4+}O_2
MANGANITA	$\text{Mn}^{3+}\text{O}(\text{OH})$
CUPRITA	Cu^{2+}O
QUARTZO	SiO_2

5.8 – COMPOSIÇÃO ELEMENTAR (C,H,N,O)

As composições elementares dos AH aparecem na Tabela 11.

Tabela 11 - Composições elementares, razões atômicas e conteúdo de cinzas dos AH.

Amostra	Carbono (%)*	Hidrogênio (%)*	Nitrogênio (%)*	Oxigênio (%)**	Cinzas (%)	H/C	N/C	O/C
AHDPC	55,20	5,41	4,56	34,83	0,6	1,22	0,07	0,49
AHDPD	54,93	5,26	4,87	34,93	ND	1,15	0,08	0,47
AHDT	54,18	5,03	4,34	36,45	0,61	1,11	0,07	0,50
AHIPC	55,56	5,36	4,86	34,22	3,29	1,15	0,07	0,46
AHIPD	53,52	5,76	4,71	36,00	0,58	1,28	0,07	0,50
AHIT	55,18	5,56	4,27	34,98	ND	1,20	0,07	0,47

* C,H,N calculado com base em matéria orgânica

** Oxigênio calculado por diferença de 100 %

ND – Não detectado

Os conteúdos de carbono dos AH variaram entre 53-55 %, enquanto que as quantidades de cinzas apresentaram-se muito baixas, uma vez que as amostras foram tratadas com HF/HCl durante o processo de purificação da extração. Há uma alta quantidade de nitrogênio nestas amostras, estando grande parte deles envolvidos na formação de estruturas do tipo metal-porfirina, como demonstrado pelos espectros de EPR (seção 5.3), o que também está relacionado com a baixa razão E_2/E_4 (seção 5.1), encontrada para elas, sugerindo matéria orgânica com predomínio de origem aquática. Sabe-se que solos menos aerados tendem a apresentar uma fonte de matéria orgânica mais rica em nitrogênio (Rice e McCarthy, 1991).

Pode-se notar que os valores das razões H/C, N/C e O/C não apresentaram grandes variações, entre as amostras. Isto se deve à grande proximidade da localização de onde as amostras de solo foram coletadas, além da pouca diferença de tempo entre as coletas. No geral, nota-se que os valores da razão H/C apresentam-se levemente maiores e, os da razão O/C, um pouco menores nas amostras do período inundado, ou seja, apresentam estruturas levemente mais alifáticas e com menos grupos carboxílicos e fenólicos do que as respectivas do período drenado. Estes resultados estão de acordo com a proposta de oxidação de anéis benzênicos (seção 5.1) nas amostras sob condições aeradas.

Duas verificações importantes foram obtidas quando os valores da porcentagem de oxigênio e os da razão O/C (Tabela 11) foram plotados contra a porcentagem de carbonos ligados a oxigênio (soma das colunas de 44-110 ppm e 142-230 ppm), obtidos através do modelo de previsão PLS (seção 5.6), que estão representados nas Figuras 48 e 49, respectivamente.

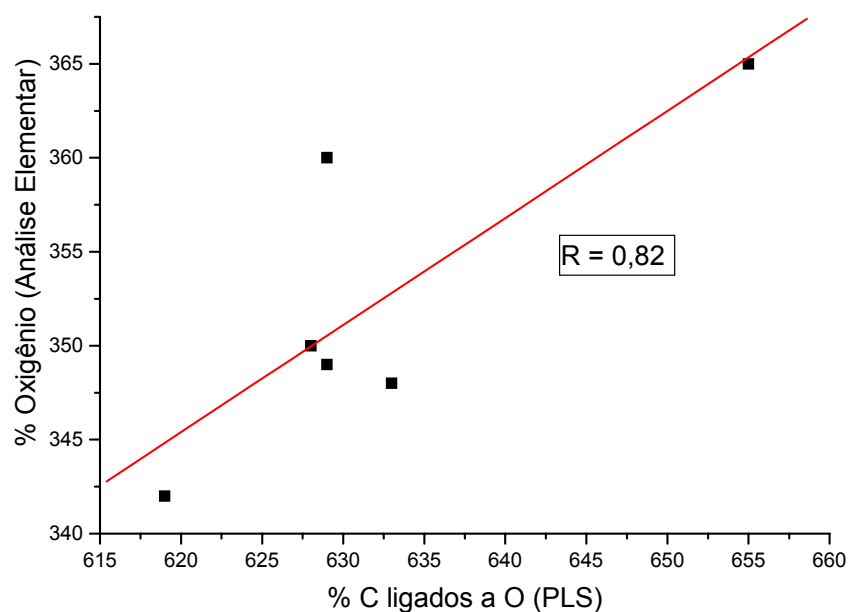


Figura 48 – Correlação entre a porcentagem de oxigênio, obtida através da análise elemental e porcentagem de carbonos ligados a oxigênio, obtida através do modelo PLS (seção 5.6). R representa o coeficiente de correlação.

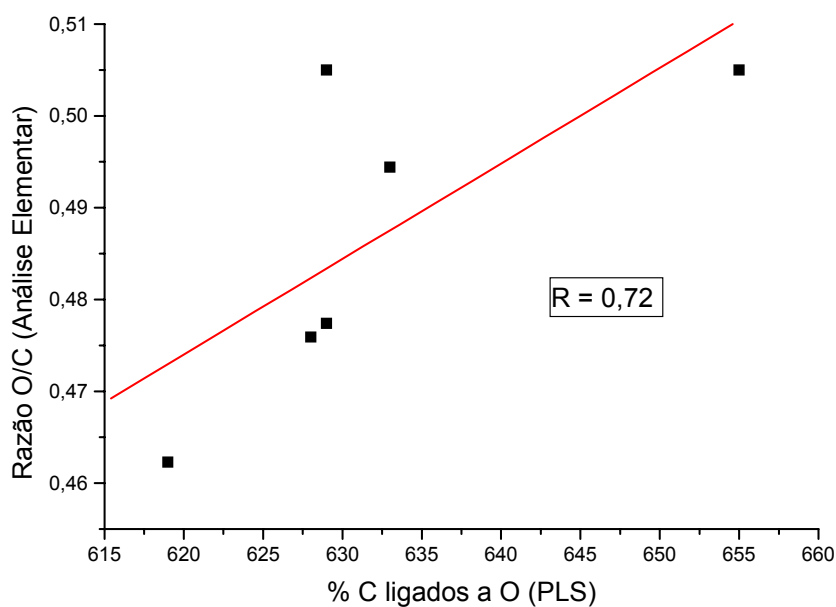


Figura 49 – Correlação entre a razão O/C, obtida através da análise elemental e porcentagem de carbonos ligados a oxigênio, obtida através do modelo PLS (seção 5.6). R representa o coeficiente de correlação.

Estes resultados mostraram uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, apresentando coeficientes de correlação razoáveis. Com isto pode-se dizer que, o modelo PLS desenvolvido na seção 5.6 trouxe dados confiáveis com respeito ao conteúdo de grupos funcionais dos AH. É sabido, no entanto, que a inserção de dados de novas amostras de SH neste modelo tenderá a torná-lo mais robusto, resultando em previsões de valores cada vez mais próximos da realidade.

5.9 – ANÁLISE DE METAIS (Al, Cu, Fe, Mn) POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ACOPLAMENTO INDUZIDO (ICP-AES)

Os teores de metais determinados por ICP-AES das amostras de AH e HU encontram-se na Tabela 12.

Dentre os resultados chama a atenção a maior quantidade de Al e Fe na fração HU, quando comparada com as dos AH. Isto se deve ao fato de que nas HU está a matéria orgânica mais fortemente ligada à inorgânica, na forma de argila (caulinita) além dos minerais do solo que apresentam estes elementos em sua composição como demonstrado pela XRD na seção 5.7. É importante ressaltar que os AH, devido a sua alta capacidade de complexação com cátions, podem ajudar a diminuir a biodisponibilidade do Al no solo (Courtijn *et al.*, 1990).

Além disso, a pequena quantidade de Fe nos AH, representa os elementos que sob a forma de Fe^{3+} participam da interconexão das moléculas húmicas, estando mais fortemente ligados à matéria orgânica.

Por outro lado, nota-se que o Cu permaneceu completamente na fração AH, sendo parte deste responsável pelo sinal de EPR (seção 5.3) referente às estruturas do tipo Cu^{2+} -porfirina. Por fim, o Mn foi detectado pela mesma técnica (EPR) na fração HU, fornecendo um sexteto de linhas associado a complexos de esfera externa do íon Mn^{2+} com a matéria orgânica do solo.

Tabela 12 - Teores de metais (Al, Cu, Fe e Mn) de AH e HU determinados por ICP-AES.

AMOSTRA	Al (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)
AHDPC	80	30	180	30
AHDPD	60	40	120	40
AHDT	70	20	120	40
AHIPC	160	60	460	110
AHIPD	50	90	180	ND
AHIT	50	30	100	30
HUDPC	430	ND	920	20
HUDPD	690	ND	960	20
HUDT	720	ND	1010	30
HUIPC	450	ND	530	30
HUIPD	750	ND	670	20
HUIT	1320	ND	1130	40

ND – Não detectado

6 – CONCLUSÕES

Os íons Cu^{2+} e Fe^{3+} desenvolvem um papel importante na interconexão de moléculas orgânicas na fração AH, estando parte destes em estruturas do tipo metal-porfirina.

Neste tipo de solo, os espectros de EPR mostraram que os íons Fe^{3+} estão ligados à MOS através de grupos oxigenados, enquanto que os íons Mn^{2+} , presentes na fração HU, formam complexos de esfera externa com ela.

Com relação aos dois tipos de manejos estudados, houve diferenças na fração AH. Os valores da razão E_4/E_6 apresentaram-se mais altos para as amostras AHPD do que para as AHPC, sugerindo que nas amostras sob plantio direto (com menor revolvimento do solo) está ocorrendo a incorporação dos resíduos orgânicos procedentes da colheita anterior (palha). O resultado disso é a formação dos chamados “ácidos húmicos jovens”, o que não ocorre tanto nas amostras sob plantio convencional. Ainda, as amostras do plantio convencional apresentaram valores na intensidade de fluorescência maiores, indicando menor tamanho molecular e a presença de componentes menos humificados, relativamente ao outro tipo de manejo.

Na fração HU, considerada a mais antiga das SH, a matriz argilomineral participa ativamente da organização espacial das ligações entre ela e a matéria orgânica (linha de EPR em 4,5). Houve uma tendência do plantio direto em favorecer uma melhor estruturação da MOS (menores razões E_4/E_6) também nesta fração, levando a crer que este tipo de manejo pode aumentar o seu grau de humificação.

A matéria orgânica deste tipo de solo é predominantemente de origem aquática, uma vez que apresenta baixos valores das razões E_2/E_4 , e estruturas do tipo metal-porfirina foram identificadas por EPR.

As propriedades da fluorescência comprovaram também, para as amostras aqui estudadas, as diferenças estruturais entre os AH e AF. AH são compostos de tamanho molecular maior, contendo um alto nível de estruturas aromáticas linearmente poli condensadas e outros sistemas com ligações insaturadas com alto grau de conjugação, prevalecendo grupos substituintes retiradores de elétrons, enquanto que os AF são compostos por estruturas mais simples, menos aromáticos poli condensados e, predomínio de substituintes doadores de elétrons. Também que os AH relativos ao plantio direto apresentam-se mais humificados (menores IF_{TL}) que até mesmo os extraídos do solo com campo nativo (onde não há atividade agrícola).

O período inundado parece favorecer um maior grau de humificação da MOS em comparação com o período drenado, uma vez que as amostras do primeiro (HU e AH)

apresentaram menores valores nas razões E_4/E_6 e maiores quantidades de carbono aromático total (previsto através do modelo PLS) do que as do último. Além disso, os AH do período inundado contém um maior número de spins.g⁻¹, maior potência de saturação de radicais livres, posição dos pares de comprimento de onda excitação-emissão levemente deslocados para valores maiores e menores intensidades de fluorescência no pico de emissão máxima.

A matéria orgânica (AH) das amostras do período drenado parece sofrer uma reação de oxidação nos anéis aromáticos, diminuindo a policondensação de anéis benzênicos. Isto resulta em um aumento da razão E_4/E_6 destas, concordando com os teores menores de C aromático total (110-155 ppm), maiores de C alquílico (0-44 ppm) e de C carboxílico (155-185 ppm), calculados pelo modelo PLS e maior razão O/C (análise elementar) do que suas respectivas do período inundado.

Os AH, aqui estudados, parecem que se comportam como micelas em solução, quando tratados com ácido acético e, posterior elevação do pH ~ 10. Isto sugere que suas estruturas apresentam microdomínios hidrofóbicos e extremidades hidrofílicas, concordando com a teoria supramolecular para as SH.

No geral, conclui-se que o plantio direto, associado à cultura do arroz irrigado neste tipo de solo, pode favorecer a permanência do carbono por mais tempo no solo (C seqüestrado), sendo assim um manejo mais conservacionista.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, D.C. **Biogeochemistry of Trace Metals**, Lewis Publishers, Boca Raton, 1992. 445 p.

ALLARD, T., PONTHEU, M., WEBER, T., FILIZOLA, N., GUYOT, J.L., BENEDETTI, M. Nature and properties of suspended solids in the Amazon basin, **Bull. Soc. Géol. France**, v. 173, p. 67-75, 2002.

ALLARD, T.; MENGUY, N.; SALOMON, J.; CALLIGARO, T.; WEBER, T.; CALAS, G.; BENEDETTI, M.F. Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the amazon basin (Brazil), **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 68, n.14, p. 3079-3094, 2004.

ALLISON, F.E. **Soil organic matter and its role in crop production**. Elsevier, Amsterdam, 1973.

ALLOWAY, B.J. **Heavy Metals in Soils**. Glasgow, UK, Blackie Academic & Professional, 1990.

ARAKI, K., TOMA, H.E. Química de sistemas supramoleculares constituídos por porfirinas e complexos metálicos, **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 962-975, 2002.

ARAÚJO, A.B.; ROSA, A.H.; ROCHA, J.C. Distribuição de metais e caracterização das constantes de troca entre espécies metálicas e frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares. **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1103-1107, 2002.

AROCENA, J. M.; PAWLUK, S.; DUDAS, M. J.; GAJDOSTIK, A. In situ investigation of soil organic matter aggregates using infrared microscopy. **Canadian Journal of Soil Science**, n. 75, p. 327 – 332, 1995.

ATKINS, P.W. **Físico - Química**. 6^a edição. Vol. 2, LTC. Rio de Janeiro, 1999, 225-293 p.

BAES, A.U., BLOOM, P.R. Diffuse reflectance and transmission Fourier transform infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 53, 1989.

BALDOCK, J.A., OADES, J.M., NELSON, P.N., SKENE, T.M., GOLCHIN, A.; CLARKE, P. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state ¹³C-NMR spectroscopy. **Aust. J. Soil Res.**, n. 35, p.1061–1083, 1997.

BALDOCK, J.A.; PRESTON, C.M. **Chemistry of carbon decomposition processes in forests as revealed by solid state carbon-13 nuclear magnetic resonance**. In: McFee, W.W., Kelly, J.M. (Eds.), Carbon Forms and Functions in Forest Soils. SSSA, Madison, WI, pp. 89–117, 1995.

BARANCIKOVA, G.; SENESI, N.; BRUNETTI, G. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. **Geoderma**, v. 78, p. 251-266, 1997.

BARTON, D.H.R., SCHNITZER, M. A new experimental approach to the humic acid problem. **Nature**, v. 198, p. 271-218, 1963.

BEN-DOR, E., INBAR, Y.; CHEN, Y. The reflectance spectra of organic matter in the visible near infrared and short wave infrared region (400-2500 nm) during a controlled decomposition process. **Remot Sens. Environ.**, v. 61, p. 1-15, 1997.

BAYER, C.; BERTOL, I. Características químicas de um Cambissolo Húmico afetadas por sistemas de preparo, com ênfase na matéria orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.3, p.687-694, 1999.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.21, n.1, p.105-112, 1997.

BERSOHN, M.; BAIRD, J.C. **An introduction to electron paramagnetic resonance**, W.A. BENJAMIM, 272 p., 1966.

BERTONCINI, E.I., D'ORAZIO, V., SENESI, N.; MATTIAZZO, M.E. Fluorescence analysis of humic and fulvic acids from two Brazilian oxisols as affected by biosolid amendment. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 381, p. 1281-1288, 2005.

BOHN, H.L., MCNEAL, B.L.; O'CONNOR, G.A. **Soil Chemistry**. John Wiley & Sons, New York., 1985.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Levantamento de Reconhecimento dos Solos do Estado do Rio Grande do Sul** – Departamento Nacional de Pesquisa Agropecuária, Divisão de Pesquisa Pedológica, Recife, 1973. p. 251-255. Boletim Técnico nº 30.

BRAVARD, S.; RIGHI, D. Characterization of fulvic and humic acids from an Oxisol-Spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**, v. 48, p.151-162, 1991.

BRINDLEY, G.W.; BROWN, G. **Crystal Structures Of Clay Minerals And Their X-Ray Identification.**, Mineralogical Society., 1980.

BROWN, D.J., SHEPHERD, K.D., WALSH, M.G., MAYES, M.D., REINSCH, T.G. Global soil characterization with VNIR diffuse reflectance spectroscopy. **Geoderma**, v. 132, n. 3-4, p. 273-290, 2006.

BUDZIAK, C.R. **Grupos ácidos e capacidade de oxidação de ácidos húmicos como método de avaliação de processos de compostagem.** Curitiba, 2002. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná.

BURDON, J. Are the traditional concepts of the structures of humic substances realistic?, **Soil Science**: v. 166, n. 1, p. 752-769, 2001.

CASTILHOS, R.M.; MEURER, E.J. ; KAMPF, N. ; PINTO, L.F.S. Mineralogia e fontes de potássio em solos no Rio Grande do Sul cultivados com arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 3, p. 191-199, 2002.

CELI, L.; SCHNITZER, M.; NÈGRE, M. Analysis of carboxil groups in soil humic acids by a wet chemical method, fourier-transform infrared spectrophotometry, and solution-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. A comparative study. **Soil Science**, v. 162, n. 3, p.189-197, 1997.

CHANG, S.T. Global Impact of Edible and Medicinal Mushrooms on Human Welfare in the 21st Century: Nongreen Revolution. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, n. 1, p. 1-7, 1999.

CHEN, J.; GU, B.; LEBOEUF, E.J.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 48, p. 59-68, 2002.

CHEN, J.; LEBOEUF, E. J.; DAI, S.; GU, B. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 50, p. 639-647, 2003.

CHEN, Z.; PAWLUK, S. Structural variation of humic acids in two sola of Alberta Mollisols. **Geoderma**, n. 65, p.173-193, 1995.

COLTHUP, N.B., DALY, L.H.; WIBERLEY, S.E. **Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy**, 3rd Ed., Academic Press, New York, 1990, 387 p.

COURTIJN, E.; VANDECASTEELE, C.; DAMS, R. Speciation of aluminium in surface water. **The Science of The Total Environment**, v. 90, p. 191-202, 1990.

COZZOLINO, A., CONTE, P., PICCOLO, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 563-571, 2001.

CZOCH, R.; FRANCIK, A., **Instrumental Effects in Homodyne Electron Paramagnetic Resonance Spectrometers.**, John Wiley and Sons, New York, 1989.

DA PAIXÃO, R.E. **Avaliação química e espectroscópica do grau de maturidade do composto de resíduos de podas e lodo de esgoto industrial em escala de laboratório.** Curitiba, 2003. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná.

DA SILVA, L., **Estruturas químicas dos ácidos húmicos de sedimento de mangue e o nível de poluição ambiental**. Curitiba, 2001. p. 66, Dissertação (Mestrado em Inorgânica), Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná.

DAY, P.R. Particle fraction and particle fractionation and particle-size analysis. In: **BLACK, C.A.**, ed. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy, v.1., p.545-566, 1965.

DE SENA, M.M.; POPPI, R.J.; FRIGHETTO, R.T.S. E VALARINI, P.J. , Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 547-556, 2000.

DENEF, K., SIX J., PAUSTIAN, K. Importance of macroaggregate dynamics in controlling soil carbon stabilization: short-term effects of physical disturbance induced by dry-wet cycles. **Soil Biol Biochem**, v. 33, n. 15, p. 2145-2153, 2001.

DICK, D. P., GONÇALVES, C. N., DALMOLIN, R.S.D., KNICKER, H., KLAMT, E., KÖGEL-KNABNER, I., SIMÕES, M. L., MARTIN-NETO, L. Characteristics of soil organic matter of different Brazilian Ferralsols under native vegetation as a function of soil depth. **Geoderma**, v. 124, p. 319–333, 2005.

DING, G., NOVAK J. M., AMARASIRIWARDENA D., HUNT, P. G.; XING, B. Soil organic matter characteristics as affected by tillage management. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 66, p.421-429, 2002.

DOBLE, M.; KUMAR, A. **Biotreatment of industrial effluents**. 1st ed. Burlington : Elsevier. 2005. 19-22 p.

DRAGO, R.S. **Physical Methods for Chemists**. 2nd ed. Gainesville: Saunders College Publishing, 1992. 458-459 p.

EFEITO ESTUFA. Disponível em <http://www.rudzerhost.com/ambiente/estufa.htm>
Acessado em 05/05/2006.

EISBERG, R.; RESNICK, R., **Física Quântica**, Ed. Campus LTDA., 1988.

ENGEBRETSON, R.; von WANDRUSZKA, R. Micro-organization of dissolved humic acids. **Environ. Sci. Technol.**, v. 28, p. 1934-1941, 1994.

FAGÉRIA, N.K., BARBOSA FILHO, M.P.; ZIMMERMANN, F.J.P. Caracterização química e granulométrica de solos de várzea de alguns estados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p. 264-274, 1994.

FARMER, V.C. **The Infrared Spectra of Minerals**. Mineralogical Society, London. , 1974. 33 p.

FILLEY, T.R.; CODY, G.D.; GOODELL, B.; JELLISON, J.; NOSER, C.; OSTROFSKY, A. Lignin demethylation and polysaccharide decomposition in spruce sapwood degraded by brown rot fungi, **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 111-124, 2002.

FOOKEN, U.; LIEBEZEIT, G. Distinction of marine and terrestrial origin of humic acids in North Sea surface sediments by absorption spectroscopy. **Marine Geology**, v. 164, p.173-181, 2000.

FRIMMEL, F.H. Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. **J. Contam. Hydrol.**, v. 35, p. 201-216, 1998.

GARAY, A.M.L. **Síntesis y caracterización espectroscópica y eletroquímica de complejos dimericos de renio (I) del tipo $[\text{LRe}(\text{CO})_3\text{LPre}(\text{CO})_3\text{L}]$; (L=DPQ y LP=4,4'-bpy)**, Temuco, 2004. p. 5, Trabajo de Título, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de Temuco.

GONDAR, D., LOPEZ, R., FIOL, S., ANTELO J.M.; ARCE, F. Characterization and acid-base properties of fulvic and humic acids isolated from two horizons of an ombrotrophic peat bog. **Geoderma**, v. 126, p.367-374, 2005.

GONZÁLEZ-PRIETO, S.J., CARBALLAS, M., CARBALLAS, T. Incorporation of the degradation products of ^{14}C , ^{15}N -glycine in various forms of organic carbon and nitrogen in two acid soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 3, p.199-208, 1992.

GOODMAN, B.A.; HALL, P.L. Electron paramagnetic resonance spectroscopy. In: WILSON, M.J. (Ed.). **Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods**. London: Chapman and Hall, 1994. 173-225 p.

GRIM, A. **Clay Mineralogy**, McGraw Hill, New York , 1968. 434 p.

GUIGNARD, C., LEMÉE, L., AMBLÉS, A. Lipid constituents of peat humic acids and humin. Distinction from directly extractable bitumen components using TMAH and TEAAc thermochemolysis. **Organic Geochemistry**, v. 36, p.287-297, 2005.

GUIMARÃES, E., **Caracterização química, espectroscópica e por análise térmica de ácidos húmicos e vermicompostos obtidos de esterco de diferentes animais**. Curitiba, 1997. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química.

GUIMARÃES, E., MANGRICH, A.S., MACHADO, V.G., TRAGHETTA, D.G., LOBO, M.A. Criterious Preparation and Characterization of Earthworm-composts in View of Animal Waste Recycling. Part II.A synergistic utilization of EPR and ^1H NMR spectroscopies on the characterization of humic acids from vermicomposts. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 26, p.734-741, 2001.

HATCHER, P.G. Chemical structural studies of natural lignin by dipolar dephasing solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance. **Org. Geochem.**, v. 11, p. 31–39, 1987.

HATCHER, P.G., ROWMAN, R., MATTINGLY, M.A. ^1H and ^{13}C NMR of marine humic acids. **Org. Geochem.**, v. 2, p. 77–85, 1980.

HATCHER, P.G., SPIKER, E.C., SZEVERENYI, N.M.; MACIEL, G.E. Selective preservation of petroleum-forming aquatic kerogen. **Nature**, v. 305, p. 498–501, 1983.

HAYES, M. H. B; MALCOLM, L.R. Considerations of compositions and aspects of the structures of humic substances. In: **Humic Substances and Chemical Contaminants**. Madison: Soil Science Society of America, p. 3-39. Copyright. 2001.

HAYES, M.H.B., CLAPP, C.E. Humic substances: Considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 723-737, 2001.

HAYES, M.H.B., SWIFT, R.S. The chemistry of soil organic colloids. In: GREENWOOD, D.J.; HAYES, M.H.B. (Ed.). **The Chemistry of Soil Constituents**. Wiley, Inter-Science, New York, 1978, 179-230 p.

HERRAMIENTAS DE BÚSQUEDA DE MINERALS. Disponível em: www.uned.es/cristamine/min_descr/busqueda/alf_mrc.htm Acesso em 06/05/2005.

HORWATH, W.R., ELLIOT, L.F., STEINER, J.J., DAVIS, J.H., GRIFFITH, S.M. Denitrification in cultivated and noncultivated riparian areas of grass cropping systems. **J. Environ. Qual.**, v. 27, p. 225-231, 1998.

HUANG, W.L., YOUNG, T.M., SCHLAUTMAN, M.A., YU, H.; WEBER, W.J.Jr. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 9. General isotherm nonlinearity and applicability of the dual reactive domain model. **Environ. Sci. Technol.**, v. 31, p. 1703-1710, 1997.

HUANG, W.L.; WEBER, W.J.Jr. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 10. Relationships between desorption, hysteresis, and the chemical characteristics of organic domains. **Environ. Sci. Technol.**, v. 31, p. 2562-2569, 1997.

IGNÁCIO, A.C. **Caracterização de interações de matéria orgânica com minerais em solos de cultivo de arroz irrigado**. In: 13º EVINCI, Curitiba, 2005.

IGNÁCIO, A.C.; OLENDZKI, R.N.; MANGRICH, A.S. **Caracterização de interações de grupos ligantes de ácidos húmicos com os íons Fe^{3+} e Cu^{2+} em solos de cultivo de arroz irrigado**. In: 29ª Reunião Anual da SBQ, Águas de Lindóia, 2006.

INBAR, Y.; CHEN, Y.; HADAR, Y. Solid state carbon-13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter. **Soil Science Society American Journal**, v. 53, p. 1695-1701, 1989.

JEYASEELAN, S. A simple mathematical model for anaerobic digestion process, **Wat. Sci. Tech.**, v. 35, p. 185-191, 1997.

JIANZHONG SONG; PING'AN PENG; WEILIN HUANG. Characterization of humic acid-like material isolated from the humin fraction of a topsoil. **Soil Science**, n. 170, v. 8, p. 599-611, 2005.

KAMRUNNAHAR I.T., MCBRATNEY, A., SINGH, B. Rapid estimation of soil variability from the convex hull biplot area of topsoil ultra-violet, visible and near-infrared diffuse reflectance spectra. **Geoderma**, v. 128, p. 249–257, 2005.

KANG, S., AMARASIRIWARDENA, D., VENEMAN, P.; XING, B. Characterization of ten sequentially extracted humic acids and a humin from a soil in Western Massachusetts. **Soil Science**, v. 168, n. 12, p. 880-887, 2003.

KENNEDY M.J.; PEVEAR D.R.; HILL R.J. Mineral surface control of organic carbon in black shale, **Science**, v. 295, p. 657-660, 2002.

KISTER, J.; PIERI, N. Effects of preheating and oxidation on two bituminous coals assessed by synchronous UV fluorescence and FTIR spectroscopy. **Energy Fuels**, v. 10, p. 948-957, 1996.

KONONOVA, M.M. **Soil Organic Matter**. Pergamon Press, Oxford, 1966.

LABORATÓRIO DE CRISTALOGRAFIA ESTEREODINÂMICA E MODELAGEM MOLECULAR. Linhas de pesquisa. Universidade de São Carlos, São Carlos. Disponível em: <http://www.dq.ufscar.br/Labs/LACREMM/supra.html>. Acesso em 29/11/2005.

LAIRD, D.A., MARTENS, D.A.; KINGERY, W.L. Nature of clay-humic complexes in an agricultural soil : I. Chemical, biochemical, and spectroscopic analyses. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 65, p. 1413-1418, 2001.

LEBOEUF, E.L.; WEBER, W.J.Jr. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 8. Sorbent organic domains: Discovery of a humic acid glass transition and an argument for a polymer-based model. **Environ. Sci. Technol.**, v. 31, p. 1697-1702, 1997.

LEHNERT, N.; FUJISAWA, K.; SOLOMON, E.I. Electronic structure and reactivity of high-spin iron—alkyl and—pterinperoxo-complexes. **Inorg. Chem.**, v. 42, n. 2, p. 469-481, 2003.

LLOYD, J.B.F. Synchronized excitation of fluorescence emission spectra. **Nature Phys. Sci.**, v. 231, p. 64-65, 1971a.

LLOYD, J.B.F. The nature and evidential value of the luminescence of automobile engine oils and related materials. Part III. Separated luminescence. **J. Forensic Sci. Soc.**, v. 11, p. 235-253, 1971b.

LOMBARDI, A.T.; JARDIM, W.F. Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine and terrestrial organic materials. **Wat. Res.**, v. 33, p. 512-520, 1999.

LOMBARDI, K. C.; GUIMARÃES, J.L.; MANGRICH, A.S.; MATTOSO, N.; ABBATE, M.; SCHREINER, V.H.; WYPYCH, F. Structural and morphological characterization of the PP0559 kaolinite from the brazilian amazon region. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.13, n. 2, p. 270-275, 2002.

MACALADY, D.L. **Perspectives in Environmental Chemistry**. Oxford University Press, New York, 1998.

MACHADO, M. O. **Adubação e calagem para a cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo. EMBRAPA-CPACT, 1993. 63 p. Boletim de Pesquisa n. 2.

MAIE N., WATANABE A., KIMURA M. Origin and properties of humus in the subsoil of irrigated rice paddies-III. Changes in binding type of humus in submerged plow layer soil. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 44, n. 3, p. 331-345, 1998.

MANGRICH, A.S. **Cadernos de EPR**, LABEPR, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, 1998.

MANGRICH, A.S. **Caracterização de Complexos de Substâncias Húmicas com VO^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+}** . Rio de Janeiro, 1983. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MANGRICH, A.S.; LERMEN, A.W.; SANTOS, E.J.; GOMES, R.C.; COELHO, R.R.R.; LINHARES, L.F.; SENESI, N. Electron paramagnetic resonance and ultraviolet-visible spectroscopic evidence for copper porphyrin in actinomicetes melanins from Brazilian soils. **Biol. Fert. Soil**, v. 26, p. 341-345, 1998.

MANGRICH, A.S.; PEREIRA, B.F.; BUDZIAK, C.R.; GUIMARÃES, E.; OLENDZKI, R.N. **Interação orgânica - inorgânica em ácidos húmicos de solos e turfas**. In: XII SBQSUL, Guarapuava, 2004.

MANGRICH, A.S.; STAINSACK, J.; MAIA, C.M.B.F.; SANTOS, J.C.P.; NAKAGAKI, S., 2002. Supramolecular Structure in Complexes of VO^{2+} and Cu^{2+} with Synthetic Humic Acid. In: XI BMIC, 2002, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: p. 95.

MANGRICH, A.S.; VUGMAN, N.V. Bonding parameters of vanadyl ion in humic acid from Jucu River's Estuarine Region. **Sci. Total Environ.**, v. 75, p. 235-241, 1988.

MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A.E.; TRAGHETTA, D.G. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of a Mollisol. **Journal of Soil Science**, v. 157, p. 365-372, 1994.

MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O.R.; TALAMONI, J.; POPPI, N.R. EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from a brazilian soil. **Journal Soil Science**, v. 151, p. 369-376, 1991.

MARTIN-NETO, L.; VIEIRA, E.M.; SPOSITO, G. Mechanism of atrazine sorption by humic acid: A spectroscopy study. Environmental. **Science Technology**, n. 28, p. 1867-1873, 1994.

MERDY, P., GUILLON, E., FRAPART, Y.M., APLINCOURT, M. Iron and manganese surface complex formation with extracted lignin. Part 2: characterisation of magnetic interaction between transition metal and quinonic radical by EPR microwave power saturation experiments. **New Journal of Chemistry**. n. 27, n. 3, p. 577-582, 2003.

MIANO, T.M.; PICOLLO, A.; CELANO, G.; SENESI, N. Infrared and fluorescence spectroscopy of glyphosate-humic acid complexes. **Sci. Total Environ.**, v. 123/124, p. 83-92, 1992.

MIANO, T.M.; SPOSITO, G.; MARTIN, J.P. Fluorescence spectroscopy of humic substances. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 52, p. 1016-1019, 1988.

MILLER, C.E. Near-infrared spectroscopy of synthetic polymers. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 26, n. 4, p. 277-339, 1991.

MILORI, D.M.B.P., MARTIN-NETO, L., BAYER, C., MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V.S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Sci.**, v. 167, p. 739-749, 2002.

MOORE, J.S. Molecular architecture and supramolecular chemistry, **Solid State & Material Science**, v. 1, n. 6, p. 777-788, 1996.

MORRA, M.J.; CORAPCIOGLU, M.O.; von WANDUSZKA, R.; MARSHALL, D.B.; TOPPER, K. Fluorescence quenching studies of Naphtalene and 1-Naphthol interaction with humic acid. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 54, p. 1283-1289, 1990.

MULLER, J.P.; CALAS, G. Genetic significance of paramagnetic centers in kaolinites. In **Kaolin Genesis and Utilization**, The Clay Minerals Society, eds. H.H. MURRAY *et al.*, 1993, 261-289 p.

NAIDJA, A., HUANG, P.M., ANDERSON, D.W.; VAN KESSEL, C. Fourier transform infrared, UV-Visible, and X-ray diffraction analysis of organic matter in humin, humic acid, and fulvic acid fractions in soil exposed to elevated CO₂ and N fertilization. **Applied Spectroscopy**, v. 56, n. 3, p. 318-324, 2002.

NAKAGAKI, S; MANGRICH, A.S.; WYPYCH, F. A cationic iron (III) porphyrin encapsulated between the layered structure of MoS₂. A new approach to the synthesis of a Fe-Mo-S system. **Inorganic Chimica Acta**, v. 254, n. 2, p. 213-217, 1997.

NÉMETH, T., BORSZÉKI, J., GEGUS, E. Correlation study of soil and plant nutritive elements by principal component analysis. **Can. J. Appl. Spectrosc.** v. 38, n. 5, p. 121-124, 1993.

NEYROUD, J.A.; SCHNITZER, M. The chemistry of high molecular weight fulvic fractions. **Can. J. Chem.** v. 52, p. 4123-4132, 1972.

NGUYEN, T.T., JANIK, L.J.; RAUPACH, M. Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) spectroscopy in soil studies. **Australian Journal of Soil Research**. v. 29, p. 49-67, 1991.

NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M. Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 56, p.135-140, 1992.

NOLIN, M.C., WANG, C., CAILLIER, M.J. Fertility Grouping of Montreal Lowlands soil Mapping Units based on Selected Soil Characteristics of the Plow Layer. **Can. J. Soil Sci.**, v. 69, p. 525-541, 1989.

NOVOTNY, E.H.; BLUM, W.E.H.; GERZABEK, M.H.; MANGRICH, A.S. Soil management system effects on size fractionated humic substances. **Geoderma**, v. 92, p. 87-109, 1999.

OLENDZKI, R.N., PEREIRA, B.F., MESSERSCHMIDT, I., MANGRICH, A.S. Organic functions content determination in humic substances using PLS chemometric method applied to DRIFT spectroscopic data. **Geoderma - Artigo Submetido**, 2006a.

OLENDZKI, R.N., IGNÁCIO, A.C., MANGRICH, A.S. Evaluation of agronomic management impacts on rice field soil organic matter by fluorescence excitation/emission matrix technique. **Chemosphere - Artigo Submetido**, 2006b.

OLK, D.C., BRUNETTI, G.; SENESI, N. Decrease in humification of organic matter with intensified lowland rice cropping: A wet chemical and spectroscopic investigation. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 64, p. 1337-1347, 2000.

PAIM, S., LINHARES, L.F.; MANGRICH, A.S.; MARTIN, J.P. Characterization of fungal melanins and soil humic acids by chemical analysis and infrared spectroscopy. **Biology and Fertility of Soils**, v. 10, p. 72- 76, 1990.

PAULETTI, V., LIMA, M.R., BARCIK, C., BITTENCOURT, A. Evolução nos atributos químicos de um Latossolo Vermelho sob diferentes métodos de preparo de solo. **Scientia Agraria**, v.6, n.1-2, p.9-14, 2005.

PEREIRA, B.F. **Novas abordagens no preparo e na caracterização de substâncias húmicas**. Curitiba, 2004. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química - Universidade Federal do Paraná.

PICCOLO, A. Humus and Soil Conservation. In: **Humic Substances in terrestrial ecosystems**. PICCOLO, A. (Ed) Elsevier Science , 1996.

PICCOLO, A. The supramolecular structures of humic substances. **Soil Science**, v. 166, p. 810-832, 2001.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids. **Eur. J. Soil Sci.**, v. 47, p. 319-328, 1996.

PINES, A., GYBBY, M.G., WAUGH, J.S., Proton enhanced NMR of dilute spins in solids. **Journal Chemical Physics**, v. 59, p. 569-590, 1973.

PLAZA, C.; BRUNETTI, G.; SENESI, N.; POLO, A. Molecular and quantitative analysis of metal ion binding to humic acids from sewage sludge and sludge-amended soils by fluorescence spectroscopy. **Environ. Sci. Technol.**, v. 40, p. 917-923, 2006.

PLAZA, C.; D'ORAZIO, V.; SENESI, N. Copper(II) complexation of humic acids from the first generation of EUROSOLS by total luminescence spectroscopy. **Geoderma**, v. 125, n. 1-2, p. 177-186, 2005.

PRESTON, C.M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. **Soil Sci.**, v. 161, p. 144-166, 1996.

PROTOCOLO DE KYOTO. Disponível em http://www1.folha.uol.com.br/folha/ciencia/2001-efeito_estufa-protocolo_de_kyoto.shtml. Acessado em 05/05/2006.

PROVENZANO, M.R.; D'ORAZIO, V.; JERZYKIEWICZ, M.; SENESI, N. Fluorescence behaviour of Zn and Ni complexes of humic acids from different sources. **Chemosphere**, v. 55, n. 6, p. 885-892, 2004.

PULLIN, M.J.; CABANISS, S.E. Rank analysis of the pH-dependent synchronous fluorescence spectra of six standard humic substances. **Environ. Sci. Technol.**, v. 29, p. 1460-1467, 1995.

QUIROGA, A.R., BUSCHIAZZO, D.E., PEINEMANN, N. Management discriminant properties in semiarid soils. **Soil Science**, v. 163, n. 7, p. 591-597, 1998.

RICE, J.A. e MACCARTHY, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. **Organic Geochemistry**, v. 17, n. 5, p. 635-648, 1991.

ROSELL, R.A., ANDRIULO, A.E., SCHNITZER, M., CRESPO, M.B.; MIGLIERINA, A. M. Humic acids properties of an agriudoll soil under two tillage systems. **Sci. Total Environ.**, v. 81, p. 391-400, 1989.

ROSSELA, R.A.V., WALVOORT, D.J.J., MCBRATNEY, A.B., JANIK, L.J., SKJEMSTAD, J.O. Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. **Geoderma**, v. 131, p. 59–75, 2006.

SAAB S.C.; MARTIN-NETO L. Studies of semiquinone free radicals by ESR in the whole soil, HA, FA and humin substances. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 15, n. 1, p. 34-37, 2004.

SAAB, S.C. **Caracterização da matéria orgânica em gleissolos por espectroscopias de EPR, RMN, IV E UV-Visível.** São Carlos, 1999. Tese (Doutorado) - Instituto de Química de São Carlos, USP.

SAAB, S.C.; MELLO, N.C.; COLNAGO, L.A.; CONCEIÇÃO, M.; NOVOTNY, E.H.; MARTIN-NETO, L. 1999. **Anéis Aromáticos Condensados e Relação E₄/E₆: Estudo De Ácidos Húmicos Por ¹³C NMR CPMAS Usando Desacoplamento Defasado.** In: XXVII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 1999, Brasília.

SALIBA, S.O.E.; RODRIGUEZ, M.N.; MORAIS L.A. S.; PILÓ-VELOSO, D. Ligninas - métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v.13, n. 5, p. 917-928, 2001.

SANCHEZ, P.A., PALM, C.A., BUOL, S.W. Fertility capability soil classification: A tool to help assess soil quality in the tropics. **Geoderma**, n. 114, p. 157– 185, 2003.

SANTOS, E.J. **Determinação de nutrientes e contaminantes inorgânicos em café solúvel por Espectrometria de emissão Atômica com Plasma de argônio Induzido (ICP-AES).** São Paulo – S.P. 1999. Dissertação de Mestrado – Química Analítica –USP.

SCHNITZER, M., KODAMA, H.; RIPMEESTER, J.A. Determination of the aromaticity of humic substances by X-ray diffraction analysis. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 55, p. 745-750, 1991.

SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. **Developments in soil science : Soil Organic Matter.** Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1978.1-17 p.

SCHNITZER, M.; PRESTON, C.M. Analysis of humic acids by solution and solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 50, p. 326–331, 1986.

SCHNITZER, M.; PRESTON, C.M. Effects of hydrolysis on the ¹³C NMR spectra of humic substances. **Plant Soil**, v. 75, p. 201–211, 1983.

SENESI, N. Applications of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in soil chemistry. **Advances in Soil Science**, v. 14, p. 77-130, 1990.

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part 1. The electron spin resonance approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, p. 51-75, 1990a.

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part 2. The fluorescence spectroscopy approach. **Anal. Chim. Acta**, v. 232, p. 77-106, 1990b.

SENESI, N., LOFFREDO, E. The chemistry of soil organic matter. In: Sparks, D.L. (Ed.), **Soil Physical Chemistry**, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 1999. 239– 370 p.

SENESI, N., MIANO, T.M., PROVENZANO, M.R., BRUNETTI, G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. **Soil Sci.**, v. 152, p. 259–271, 1991.

SENESI, N., SCHNITZER, M. Effects of pH, reaction-time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. **Soil Science**, v. 123, n. 4, p. 224-234, 1997.

SENESI, N., STEELINK, C. Application of ESR spectroscopy to the study of humic substances. In: M.H.B. HAYES et al. (ed) **Humic substances. II: In search of structure**. Chichester: John Wiley and Sons, Inc., 1989. 373-408 p.

SIERRA, M.M.D., GIOVANELA, M., PARLANTI, E.; SORIANO-SIERRA, E.J. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. **Chemosphere**, v. 58, p. 715-733, 2005a.

SIERRA, M.M.D.; GIOVANELA, M.; PARLANTI, E.; ESTEVES, V.I.; DUARTE, A.C.; FRANSOZO, A., and SORIANOSIERRA, E.J. Structural description of humic substances from subtropical coastal environments using elemental analysis, FT-IR and ^{13}C -solid state NMR data. **Journal of Coastal Research**, v. 42, p. 370-382, 2005b.

SIERRA, M.M.S.; GIOVANELA, M.; SIERRA, E.J.S.; PARLANTI, E. 3D-Fluorescence spectroscopic analysis of HPLC fractionated estuarine fulvic and humic acids . **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 1, p. 113-124, 2006.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C. **Identificação espectroscópica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1979.

SKOOG; A.D. WEST, M.D.; HOLLER, J.F. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 6th ed. For Worth, Philadelphia, San Diego, New York, Orlando, Austin, San Antonio, Toronto, Montreal, London, Sydney, Tokio: Saunders College Publishing, 1992. 508-526; 561-591 p.

SMITH, R.M.; MARTELL, A.E.; MOTEKAITIS, R.J. **NIST Critical stability constants of metal complexes**. Database 46 version 8.0, US Department of Commerce, Gaithersburg, USA, 2004.

SODRÉ, F.F. **Especiação do cobre em águas naturais: Influência de fatores associados à urbanização**, Curitiba, 2005. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná.

SODRÉ, F.F.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; GRASSI, M.T. Digestão fotoquímica, assistida por microondas, de águas naturais: aplicação em estudos de partição e especiação do cobre. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 695-700, 2004.

STEVENSON, F. J. **Biochemistry of the formation of humic substances**. In: Humus Chemistry. John Wiley, New York, p. 195-219, 1982.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2nd Ed.: John Wiley & Sons, New York. ,1994.

STEVENSON, F.J.; GOH, K.M. Infrared spectra of humic acids and related substances. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 35, p. 417, 1971.

SUDDUTH, K.A.; HUMMEL, J.W. Portable, near-infrared Spectrophotometer for rapid soil analysis, **Transactions for the ASAE**, v. 36, n. 1, p. 185-193, 1993.

SWIFT, R.S. Sequestration of carbon by soil. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 858-871, 2001.

TAN, K.H. **Principles of Soil Chemistry**, Marcel Dekker, New York, 1982. 62 p.

USSIRI D.A.N., JOHNSON, C. E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ¹³C NMR spectroscopy and chemical methods. **Geoderma**, v. 111, p. 123–149, 2003.

VALEUR, B. **Molecular fluorescence: principles and applications**, Wiley, NY, 2001. 54-58 p.

VO-DINH, T. Multicomponent analysis by synchronous luminescence spectrometry. **Anal. Chem.**, v. 50, p. 396-401, 1978.

VOGEL, A.I. **Análise Química Quantitativa** . 5ª Edição. Editora LTC. Rio de Janeiro, 1992, 597-628 p.

WANDER, M.M.; TRAINA, S.J. Organic fractions from organically and conventionally managed soils: II Characterization, **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 60, p.1087-1094, 1996.

WERTZ, J.E.; BOLTON, J.R. **Electron Spin Resonance**, Mcgraw Hill, 1972. 11-61 p.

WESTERHOFF, P.; ANNING, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. **J. Hydrol.**, v. 236, p. 202–222, 2000.

WILSON, M. J. **Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods**. Chapman & Hall, London, 1994.

WILSON, M.A. Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy to organic matter whole soils. In.: MACCARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOLM, R.L.; BLOOM, P.R. (Eds.) **Humic substances in soil and crop**. Science Society of America, 1990. 221-260 p.

XING, B., PIGNATELLO, J.J.; GIGIOTTI, B. Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents. **Environ. Sci. Technol.**, v. 30, p. 2432-2440, 1996.

XING, B.; CHEN, Z. Spectroscopic Evidence for condensed domains in soil organic matter. **Soil Science**, v. 164, p. 40-47, 1999.

XING, B.; PIGNATELLO, J.J. Dual-mode sorption of low-polarity compounds in glassy polyvinylchloride and soil organic matter. **Environ. Sci. Technol.**, v. 31, p.792-799, 1997.